Aus dem Pharmakologischen Institut
der Universität Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. med. K. Greeff

Untersuchungen über Struktur-Wirkungsbeziehungen ringsubstituierter Phenoxipropanolaminderivate mit ß-Rezeptoren-blockierenden Eigenschaften

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Karin Hempel

1983

UBIV.
LEODIENS
BIBL.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543905_0098

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Universität Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. med. K. Greeff

Untersuchungen über Struktur-Wirkungsbeziehungen ringsubstituierter Phenoxipropanolaminderivate mit ß-Rezeptoren-blockierenden Eigenschaften

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Karin Hempel

1983

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. Hopf

Referent:

gez.: Prof. Dr. Noack

Koreferentin:
gez.: Priv.-Doz. Dr. Sob

Meinem Mann

Inhaltsverzeichnis

		Seite
	Abkürzungen	7
1.	Einleitung	8
1.1.	ß-Rezeptorenblocker	8
1.2.	Struktur-Wirkungsbeziehungen	13
1.3.	Untersuchte Systeme	19
1.3.1.	Mitochondrien	19
1.3.2.	Elektronentransportierende Partikel	21
1.3.3.	Isolierte Meerschweinchenvorhöfe	22
1.4.	Ziel dieser Arbeit	23
2.	Experimenteller Teil	24
2.1.	Chemische Struktur der untersuchten ß-Rezeptorenblocker	24
2.2.	Unspezifische Parameter	25
2.2.1.	Bestimmung des Verteilungskoeffizienten P in n-Octanol/Wasser als Maß für die Lipophilie der untersuchten ß-Rezeptorenblocker	25
2.2.2.	Einfluß der ß-Rezeptorenblocker auf die oxidative Phosphorylierung isolierter Lebermitochondrien	27
2.2.2.1.	Präparation der Lebermitochondrien	27
2.2.2.2.	Messung der oxidativen Phosphorylierung isolierter Lebermitochondrien	28
2.2.3.	Beeinflussung der $NADH+H^+$-Oxidation elektronentransportierender Partikel (ETP) aus Rinderherzen	31

		Seite
2.2.4.	Untersuchungen an isolierten, elektrisch gereizten linken Meerschweinchenvorhöfen	34
2.2.4.1.	Einfluß der ß-Rezeptorenblocker auf die Kontraktionskraft	34
2.2.4.2.	Zeitabhängige Abnahme der Kontraktionskraft der isolierten linken Vorhöfe	35
2.3.	Untersuchungen zur spezifischen Wirkung der ß-Rezeptorenblocker	37
2.3.1.	Stabilität des Versuchsmodells und intrinsische Aktivität der ß-Rezeptorenblocker	37
2.3.1.1.	Bestimmung der zeitabhängigen Abnahme der Schlagfrequenz der isolierten rechten Vorhöfe	37
2.3.1.2.	Bestimmung der intrinsischen Aktivität der ß-Rezeptorenblocker	38
2.3.2.	Bestimmung der Gleichgewichtsdissoziationskonstanten	41
2.3.2.1.	Bestimmung der Gleichgewichtsdissoziationskonstanten K_B für KL 255	41
2.3.2.2.	Bestimmung der Gleichgewichtsdissoziationskonstanten K_P für partielle Agonisten	45
2.3.2.3.	Reproduzierbarkeit der Dosis-Wirkungskurve für (-)IPN als Maß für eine zu erwartende Desensibilisierung der rechten Vorhöfe	49
2.4.	Reagenzien	51
3.	Diskussion	52
3.1.	Beschreibung der untersuchten Struktur-Wirkungsbeziehungen	52

		Seite
3.2.	Abhängigkeit der untersuchten Wirkungen von der Lipophilie	58
3.3.	Einfluß der ß-Rezeptorenblocker auf die Atmungskette	62
3.4.	Spezifische adrenolytische Wirkung der ß-Rezeptorenblocker	63
3.5.	Intrinsische Aktivität der untersuchten ß-Rezeptorenblocker	65
3.6.	Affinität der ß-Rezeptorenblocker	68
3.7.	Spezifität	69
	Zusammenfassung	72
	Literaturverzeichnis	75

Abkürzungen

ADP	Adenosin-5´-diphosphat
ATP	Adenosin-5´-triphosphat
DCI	3´,4´-Dichlorisoproterenol
DNP	2,4 -Dinitrophenol
DWK	Dosis-Wirkungskurve
ED_{50}	effektive Dosis, die 50% der Wirkung (z.B. Hemmung, Aktivierung) hervorruft
EGTA	Bis-(aminoethyl)-glycoläther--N,N,N´,N´-tetraessigsäure
ETP	Elektronentransportierende Partikel
IPN	(-)Isoproterenol
ISA	intrinsische Aktivität
$NADH+H^+$	reduziertes Nicotinamid-adenin -dinucleotid
pC	- log ED_{50}
RSA	Rinderserumalbumin
Tris	Tris-(hydroximethyl)-aminomethan
Upm	Umdrehungen pro Minute

1. Einleitung

1.1. ß-Rezeptorenblocker

Die Klassifizierung der Adrenorezeptoren in α- und ß-Rezeptoren wurde erstmals von Ahlquist (1948) durch Vergleich der Wirkungsstärken und Wirkungsqualitäten von Noradrenalin, Adrenalin und synthetischem Isoproterenol an verschiedenen Systemen eingeführt. Nach der Synthese selektiver Rezeptorenblocker konnte man die Adrenorezeptoren auch durch die Antagonisten (α- bzw. ß-Rezeptorenblocker) beschreiben und damit die duale Rezeptortheorie bestätigen. Powell (1958) stellte Dichlorisoproterenol als ersten ß-Rezeptorenblocker vor.

Während die adrenergen Hemmstoffe im allgemeinen rezeptorspezifisch sind (α-Rezeptorenblocker Phentolamin, ß-Rezeptorenblocker DCI), stimulieren die natürlichen Neurotransmitter Adrenalin und Noradrenalin in unterschiedlichem Ausmaß beide Rezeptorentypen, so daß ihre z.T. entgegengesetzte Wirkung auch mit der unterschiedlichen Verteilung der α- und ß-Rezeptoren im Gewebe erklärt werden muß (Übersichten siehe Palm, 1977; Muscholl und Rahn, 1968; zur Definition der Rezeptorentypen siehe Furchgott, 1972).

Lands et al. (1967) beobachteten, daß ß-Sympathomimetika an verschiedenen Organen unterschiedlich stark wirksam sind. Sie konnten eine positive Korrelation der mimetischen Wirkung zwischen Lipolyse und Zunahme der Kontraktionskraft am Herzen einerseits, sowie zwischen Bronchi-

al- und Gefäßmuskelrelaxation andererseits feststellen und unterteilten die ß-Rezeptoren in $ß_1$- und $ß_2$-Subtypen. Demnach vermitteln $ß_1$-Rezeptoren kardiale Wirkung, Lipolyse und Relaxation der Darmmuskulatur, $ß_2$-Rezeptoren Bronchodilatation, Relaxation von Uterus- und Gefäßmuskulatur sowie Glykogenolyse.

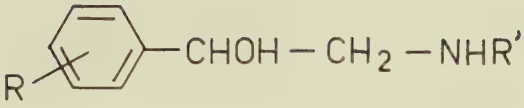
Inzwischen fand man auch spezifische ß-Rezeptorenblocker: So blockiert Practolol bevorzugt kardiale $ß_1$-Rezeptoren (Dunlop und Shanks, 1968), Butoxamin mehr $ß_2$-Rezeptoren (Wilkenfeld und Levy, 1968). Auch Horii et al. (1974) zeigten die unterschiedliche Selektivität einer Reihe von ß-Rezeptorenblockern auf. Diese Unterschiede sind aber teilweise mehr quantitativer Natur, da z.B. Butoxamin in hohen Dosen beim Hund auch die $ß_1$-Rezeptoren blockiert (Maxwell et al., 1967). Isoproterenol übt auf beide ß-Rezeptorentypen eine gleich starke und jeweils die stärkste Wirkung aus. In der Literatur besteht heute weitgehend Übereinstimmung darüber, daß eine über $ß_1$-Rezeptoren vermittelte Wirkung vorliegt, wenn sich die relativen Wirkungsstärken wie folgt verhalten: Isoproterenol > Noradrenalin > Adrenalin. Die Hemmung erfolgt selektiv z.B. durch Practolol. Eine über $ß_2$-Rezeptoren gesteuerte Wirkung läßt sich aus Isoproterenol > Adrenalin > Noradrenalin herleiten und wird durch Butoxamin gehemmt. Carlsson (1977) zeigte pharmakodynamisch, daß am Herzen die $ß_1$-Rezeptoren dominieren. Im Myokard ist das Verhältnis von $ß_1$- zu $ß_2$-Rezeptoren größer als am Sinusknoten. Weiterhin gibt es Spezies-

unterschiede in Anzahl und Verteilung der ß-Rezeptorensubtypen (Hedberg et al.; 1980).

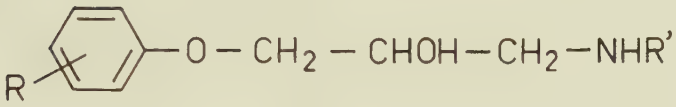
Neben den klassischen pharmakologischen Experimenten, die sich die funktionelle Beeinflussung von isolierten Organen oder der Hämodynamik am Ganztier zunutze machten, kann man heute auch biochemisch durch Bindungsstudien mit radioaktiv markierten Liganden Hinweise auf die Anzahl der Bindungsstellen und die Affinität der Liganden zu den Bindungsstellen in verschiedenen Geweben erhalten. Inzwischen wurde der ß-Rezeptor auch als Membranprotein unter Erhaltung seiner Bindungscharakteristik isoliert (Vauquelin et al., 1977, 1979).

Durch viele Untersuchungen mit Antagonisten und Agonisten hat man heute eine Vorstellung über die Topografie der Bindungsstelle am Rezeptor und es wurde die dynamische Rezeptortheorie zur Wirkung der Katecholamine entwickelt (Bloom und Goldman, 1966).

Chemisch leiten sich nahezu alle derzeit im Handel befindlichen ß-Rezeptorenblocker vom Isoproterenol, dem Prototyp eines ß-Sympathomimetikums, ab. Mit wenigen Ausnahmen gehören sie entweder der Klasse der Ethanolaminderivate (1) oder der Oxipropanolaminderivate (2) an (siehe Abb.1). Andere ß-blockierende Substanzen besitzen statt der Phenoxigruppierung (siehe Typ 2 in Abb.1) auch Heterozyklen (Meyer et al., 1973).



(1)



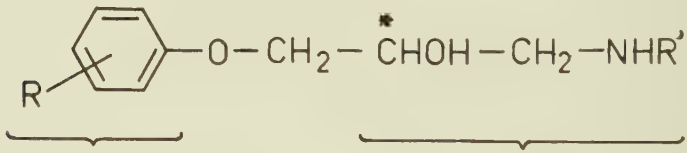
(2)

Abb.1: Schema der im Handel erhältlichen ß-Rezeptorenblocker: (1) Ethanolaminderivate, (2) Oxipropanolaminderivate.

Allgemein besitzen ß-Rezeptorenblocker eine spezifische, über die adrenergen Rezeptoren vermittelte Wirkung, und eine unspezifische (kardiodepressive) Nebenwirkung. Die vorhandene Stereospezifität einer Wirkung ist ein Hinweis dafür, daß eine Blockade adrenerger ß-Rezeptoren vorliegt und keine unspezifische Membranwirkung. Nur die (-)Enantiomeren der ß-Sympathomimetika und ß-Rezeptorenblocker besitzen eine hohe Affinität zum Rezeptor. Die unspezifische Membranwirkung dagegen ist bei den Enantiomeren gleich und damit nicht stereospezifisch (Palm, 1977).

Die prinzipielle Affinität der ß-Rezeptorenblocker zum Rezeptor ist durch die N-Isopropyl-Ethanolamin(Phenoxipropanolamin)-Struktur gegeben. Eine Steigerung der Affinität kann durch einen N-t-Butyl-Substituenten erreicht werden

(Crowther et al., 1969; Kaumann et al., 1979).
Die Hydroxylgruppe am asymmetrischen Kohlenstoff der ß-Rezeptorenblocker scheint eine wichtige Rolle bei deren Wirksamkeit zu spielen (Howe, 1970).
Die Affinität eines ß-Rezeptorenblockers wird durch den meist substituierten aromatischen Ring moduliert. Dieser entscheidet auch über eine mögliche intrinsische Aktivität (ISA), z.T. über die Rezeptorenselektivität und über die Stärke der unspezifischen Membranwirkungen.
Die Abb.2 gibt die bisher bekannten Zusammenhänge zwischen Struktur und Wirkung bei ß-Rezeptorenblockern wieder.



modulierte Affinität
intrinsische Aktivität
Kardioselektivität
Pharmakokinetik

Affinität

* asym. Kohlenstoff

Abb.2: Allgemeine Zusammenhänge zwischen Struktur und Wirkung bei ß-Rezeptorenblockern (nach Palm, 1977).

Viele ß-Rezeptorenblocker bewirken bei niedrigen Konzentrationen, die noch keinen negativ inotropen Effekt auslösen, eine Steigerung der Herzfrequenz und -kraft. Bei

einer Reihe von ß-Rezeptorenblockern wird dieser stimulierende Effekt durch den reinen Antagonisten Propranolol unterdrückt (Kaumann und Blinks, 1980a) und wird deshalb vermutlich über die ß-Rezeptoren vermittelt. Weiterhin ist die Wirkung stereospezifisch: Wie beim IPN wirken auch hier die (-)Enantiomeren stärker.

Der kardiodepressive Effekt der ß-Rezeptorenblocker zeigt sich am Herzen in einer unspezifischen Hemmung der Schlagfrequenz und der Kontraktionskraft. Er läßt sich auch an Zellen und Zellorganellen nachweisen: So hemmen ß-Rezeptorenblocker mit steigender Lipophilie (s.u.) die Thrombozytenaggregation und schützen die roten Blutkörperchen gegen Hämolyse (Zwillenberg und Bösinger, 1980; Wietholt et al., 1973). Der unspezifische Effekt wird deshalb in Abhängigkeit vom Versuchsobjekt auch als membranstabilisierend, lokalanästhetisch oder chinidinartig (antifibrillatorisch) bezeichnet (siehe auch Hellenbrecht et al., 1973).

1.2. Struktur-Wirkungsbeziehungen

In den letzten Jahrzehnten entwickelte sich die Beschreibung der Struktur-Wirkungsbeziehungen von einer mehr empirischen Disziplin zu einer theoretisch fundierten Wissenschaft.

Nach Brown und Frazer (1869) besteht eine mathematische Beziehung zwischen biologischer Wirkung und Struktur eines Pharmakons. Meyer (1899) und Overton (1899) fanden, daß die narkotische Potenz der untersuchten Substanzen sich

mit zunehmender Lipophilie (ausgedrückt durch die Verteilung zwischen Wasser und Olivenöl) steigerte.

Die hydrophoben Eigenschaften eines Moleküls sind von besonderer Wichtigkeit für seine biologische Aktivität. Bei seinem Weg von der Biophase zum Rezeptor (unabhängig davon, wie man sich diesen vorzustellen hat) muß ein Pharmakon zumindest eine, meist jedoch mehrere hydrophobe Barrieren (d.h. Membranen) überwinden. Man kann deshalb den Weg eines Moleküls vereinfacht mit mehreren Verteilungsschritten beschreiben. Sogar den letzten Schritt, die Bindung an die Rezeptoroberfläche, kann man als Verteilung der Moleküle zwischen dem hydrophilen Medium um den Rezeptor und der mehr oder weniger hydrophoben Rezeptoroberfläche betrachten (Kubinyi, 1976).

Der n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient eignet sich für Untersuchungen zu Struktur-Wirkungsbeziehungen am besten, da er biologische Systeme am besten simuliert (siehe auch Hansch und Dunn, 1972; Smith et al., 1975). Wie n-Octanol sind biologische Membranen aus hydrophoben Alkylketten und polaren Gruppen aufgebaut.

Wenn eine Substanz aus der wässrigen Phase in die n-Octanol-Phase übertritt, werden nur hydrophobe Wechselwirkungen beobachtet, da keine Wasserstoffbrücken gelöst werden, d.h. das Pharmakon nimmt das gebundene Wasser mit in die n-Octanol-Phase.

Wegen der aufgeführten Vorteile wählen viele Autoren den n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten als Maß für die

Lipophilie bei ihren Untersuchungen, so daß es viele Vergleichswerte in der Literatur gibt (Kubinyi, 1979).
Bei polaren Systemen (z.B. Ketone, Ester, Alkohole) läßt sich eine befriedigende Korrelation zum n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten nach der Collander-Gleichung finden (Collander, 1951).
Die Änderung des Verteilungskoeffizienten bei einer homologen Reihe kann vorhergesagt werden (Tute, 1971; Hansch et al., 1972). Der Verteilungskoeffizient ist abhängig vom pH-Wert und von der Temperatur. Eine bessere Lösung einer Substanz in einer organischen Phase wird durch Salzzugabe (Bildung von Ionenpaaren) erreicht. Je lipophiler das Gegenion ist, desto größer ist der Verteilungskoeffizient.
Die Lipophilie eines Wirkstoffes spielt eine wichtige Rolle bei vielen Systemen: Enzymen, Membranen, Zellen und Organismen. Bis heute sind von Hansch und seiner Gruppe mehrere hundert lineare Beziehungen zwischen der Lipophilie (ausgedrückt durch den n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten) und der biologischen Wirkung mit folgender Gleichung beschrieben worden (Hansch und Dunn, 1972; Hansch, Leo et al., 1973):

$$\log 1/C = a \log P + b \quad \text{oder} \quad \log 1/C = a\pi + b$$

Dabei ist C die gemessene Standardantwort (z.B. Wirkdosis ED 50) und P der n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient. Die Unbekannten a und b werden durch Regressionsanalyse bestimmt, die Hydrophobizitätskonstante π ist definiert als:

$$\pi_X = \log P_X - \log P_H \quad ,$$

wobei P_X der Verteilungskoeffizient der substituierten, P_H der der unsubstituierten Verbindung ist (Hansch und Fujita, 1964). Die Hydrophobizitätskonstante gibt demnach eine Substituenteneigenschaft wieder (siehe auch Fujita et al., 1964) und kann auch berechnet werden (Tute, 1971).
Die Struktur-Wirkungsbeziehung ist nicht unbegrenzt linear. Nach einer maximalen Aktivität bei einer optimalen Lipophilie P_0 einer Substanz nimmt die Aktivität in den meisten Fällen bei den homologen Reihen wieder ab, d.h. es resultiert eine parabelförmige Beziehung:

$$\log 1/_C = a\ (\log P)^2 + b \log P + c \quad \text{oder}$$

$$\log 1/_C = a\ \pi^2 + b\ \pi + c$$ (Literatur siehe Hansch und Clayton, 1973; Hansch und Glave, 1971; Dal Pozzo et al., 1979).

Jedes biologische System wird von mehreren Kompartimenten mit mehr oder weniger hydrophilem oder hydrophobem Charakter gebildet. Hansch nimmt bei seiner Betrachtung einen Zufallsweg der Moleküle aus der Biophase zum Rezeptor an.
Für hydrophile Moleküle ist der Transport durch Fettphasen (z.B. Membranen) ein geschwindigkeitsbegrenzender und konzentrationsabhängiger Schritt; hydrophobe Moleküle bleiben in Membranen haften. Nur Substanzen mit einer optimalen Lipophilie können ihr Ziel in einer annehmbaren Zeit erreichen. Verschiedene weitere Modelle zum Pharmakontransport

sind in den letzten Jahren entwickelt worden (McFarland, kinetisches Modell, 1970; Higuchi und Davis, Gleichgewichtsmodell, 1970).

Obwohl sich Hanschs parabolisches Modell in der Praxis gut bewährt hat, kann es doch keine Verbindung zur linearen Beziehung herstellen. Bei dieser kann man annehmen, daß noch keine optimale Lipophilie bei einer Substanzklasse erreicht wurde, nach der dann die biologische Aktivität abnimmt. Weiterhin ist der ansteigende und abfallende Teil der Parabel gekrümmt und nicht linear. Kubinyi (1976) schlägt deshalb als bessere Annäherung ein bilineares Modell vor, das auch besonders geeignet sein soll, wenn heterogene Serien verglichen werden.

Viele Untersuchungen zu Struktur-Wirkungsbeziehungen werden mit homologen Reihen von Substanzen durchgeführt. Dann kann man in der Regel das parabolische Hansch-Modell anwenden. Werden andere Elemente als CH_2-Gruppen zum Ausgangsmolekül hinzugefügt, so werden zusätzlich elektronische und sterische Effekte wichtig. Deshalb müssen die parabolischen Gleichungen noch durch andere Faktoren erweitert werden. Hansch schlägt die Linearkombination der verschiedenen physikochemischen Parameter vor. Allgemein ergibt sich die folgende Gleichung:

$$\log 1/C = a\cdot(\log P)^2 + b\cdot(\text{lipophile Parameter}) + c\cdot(\text{polare Parameter}) + d\cdot(\text{elektronische Parameter}) + e\cdot(\text{sterische Parameter}) + f$$

(siehe auch Kubinyi, 1979).

Bei Untersuchungen zu Struktur-Wirkungsbeziehungen werden am häufigsten folgende Eigenschaften betrachtet (siehe auch Mannhold, 1977):

1. lipophile Parameter

Der Verteilungskoeffizient P und die Hydrophobizitätskonstante π sind oben beschrieben (siehe Hansch, Leo et al., 1973; McFarland, 1970; Fujita et al., 1964).

R_M ist ein chromatografischer Parameter ($R_M = \log 1/R_F - 1$), der sich gut zur Bestimmung kleinerer Substanzmengen eignet und besonders bei sehr polaren oder sehr unpolaren Substanzen ermittelt wird (Rodenkirchen, 1978). In der quadrierten Form gelten diese Terme als lipophile Transportfaktoren.

2. elektronische Parameter

Die Hammett-Konstante (Hammett, 1973; Norrington et al., 1975) bezeichnet Ionen-Ionen- oder Ionen-Dipol-Wechselwirkungen und beinhaltet mesomere und induktive Effekte. Das Dipolmoment μ beschreibt die Polarisierbarkeit von Gruppen (McFarland, 1971; Quinn et al., 1975).

3. sterische Parameter

Das Molvolumen MV (Craig, 1971) und die Molrefraktion MR (Hansch, Leo et al., 1973) sind grobe Abschätzungen der sterischen Wechselwirkungen. Die Taft-Konstante E_S (Kutter und Hansch, 1969; Taft jr., 1956) erfaßt insbesondere intra- oder intermolekulare Hinderung bei der Pharmakon-Rezeptor-Wechselwirkung. Die Sterimol-Parameter L, B_{1-4} stellen eine genaue Beschreibung der sterischen Ausdehnung von

Substituenten dar (siehe Diskussion).

1.3. Untersuchte Systeme

1.3.1. Mitochondrien

Mitochondrien als Zellorganellen erfüllen die folgenden Funktionen in der Zelle:

a) Oxidation von Substraten,
b) Energiebereitstellung mit Hilfe der oxidativen Phosphorylierung,
c) Fettsäureoxidation,
d) Endabbau der Kohlehydrate (Zitronensäurezyklus und Atmungskette),
e) Harnstoffsynthese,
f) aktiver Ionentransport zwischen Zytoplasma und Mitochondrieninnenraum.

Mitochondrien besitzen zwei Membranen, die voneinander isoliert werden können. Die äußere Membran enthält Monoaminooxidase und Fettsäure-aktivierende Enzyme, sie ist für die meisten gelösten niedermolekularen Stoffe frei permeabel. Die innere Membran hat durch Einfaltungen, die Cristae genannt werden, eine wesentlich größere Oberfläche. Sie ist die eigentliche Ionenbarriere, an der die meisten aktiven Transportvorgänge ablaufen.

Mitochondrien spielen in Muskelzellen neben dem sarkoplasmatischen Retikulum eine besondere Rolle als reversibler

Speicher für Ca^{2+}-Ionen. Hinsichtlich der Energiebereitstellung erfolgt die Ca^{2+}-Akkumulation alternativ zur oxidativen Phosphorylierung. Beide Prozesse konkurrieren um ein gemeinsames energiereiches Zwischenprodukt in der Reihe der energiebereitstellenden Reaktionen der Atmungskettenphosphorylierung. Von zahlreichen Autoren wird angenommen, daß die Funktion der Mitochondrien im Herzmuskel der des sarkoplasmatischen Retikulums im Skelettmuskel entspricht (Übersicht bei Noack, 1973). So konnten Lee et al. (1970) nachweisen, daß Myofibrillen in vitro durch isolierte Herzmitochondrien zur Erschlaffung gebracht werden können. Weiterhin findet sich injiziertes Ca^{2+} stärker in der Fraktion der Herzmitochondrien als in der des sarkoplasmatischen Retikulums von Kaninchen (Patriarca und Carafoli, 1968; Dhalla et al., 1970). Noack (1973) fand eine enge Korrelation ($r = 0,99$) zwischen der Hemmung des Ca^{2+}-Transportes durch ß-Rezeptorenblocker bei Herz- und Lebermitochondrien. Weiterhin besteht eine direkte Proportionalität zwischen der Verlangsamung des aktiven Calciumtransportes und der oxidativen Phosphorylierung durch ß-Rezeptorenblocker.

Durch ihre mannigfaltigen Funktionen könnten Mitochondrien für herzwirksame Pharmaka einen bedeutenden Angriffspunkt darstellen.

1.3.2. Elektronentransportierende Partikel (ETP)

Neben Mitochondrien eignen sich besonders auch ETP als Testobjekte für unbekannte Pharmaka. Aufgrund der Abwesenheit von Nebenwegen der Atmungskette sind die in dieser Arbeit verwendeten tierischen Partikel besser geeignet als pflanzliche ETP. Die nichtphosphorylierenden ETP mit vollständig entkoppeltem Elektronentransportsystem zeigen daher eine große Übersichtlichkeit für echte Hemmstoffe der Atmungskette (Müller et al., 1977).
Bei der angewendeten Alkalibehandlung zur ETP-Präparation schwellen die Mitochondrien. Durch die anschließende Messerhomogenisierung entstehen Fragmente, bei denen die ursprüngliche Mitochondrieninnenseite nach außen gerichtet ist (elektronenmikroskopische Aufnahmen siehe Müller et al., 1977). Die Enzyme der Atmungskette sind demnach frei zugänglich (siehe Abb.3).

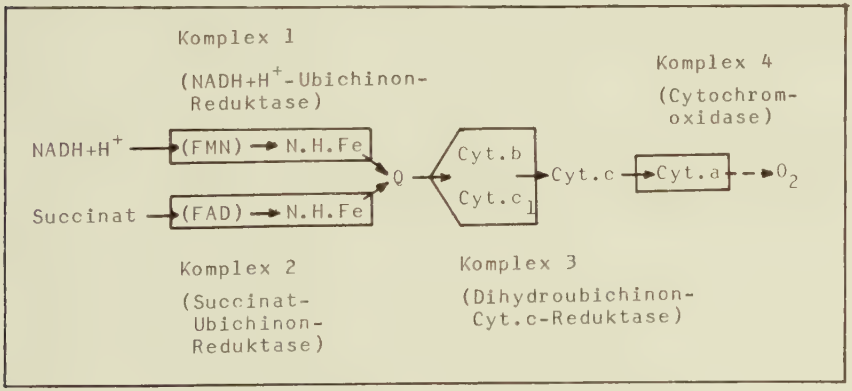


Abb.3: Schema des Atmungskettenaufbaus (nach Hofmann, 1970)
Q = Ubichinon; Cyt = Cytochrom; N.H.Fe = nichthämgebundenes Eisen; FAD, FMN = Flavine .

Die ETP haben nach Müller et al. (1977) folgende Vorteile:

a) Es bestehen keine Penetrationsbarrieren mehr, die Enzyme der Mitochondrieninnenfläche sind frei zugänglich.

b) ETP sind bei -30°C lagerungsstabil, d.h. für die Untersuchungen zu Struktur-Wirkungsbeziehungen kann man immer dieselbe Fraktion verwenden.

c) Für das Ausmaß der Hemmwirkung ist allein die Affinität des Wirkstoffes zum Rezeptor der Atmungskette maßgebend.

1.3.3. Isolierte Meerschweinchenvorhöfe

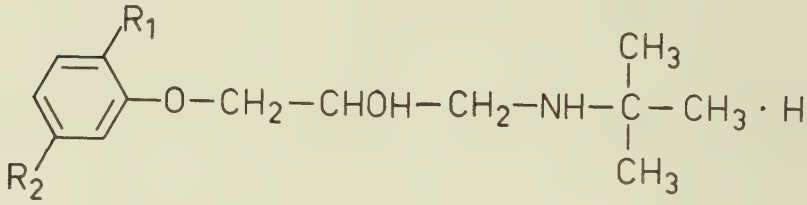
Isolierte Meerschweinchenvorhöfe sind ein gut geeignetes Modell, um unspezifische und spezifische ß-Rezeptorenwirkungen zu untersuchen. Neben der Bestimmung der spezifischen ß-adrenolytischen Wirkung (Gleichgewichtsdissoziationskonstante K_B bzw. K_P für volle Antagonisten und partielle Agonisten) kann man die unspezifische kardiodepressive Wirkung (negativ inotroper und chronotroper Effekt) nachweisen.

1.4. Ziel dieser Arbeit

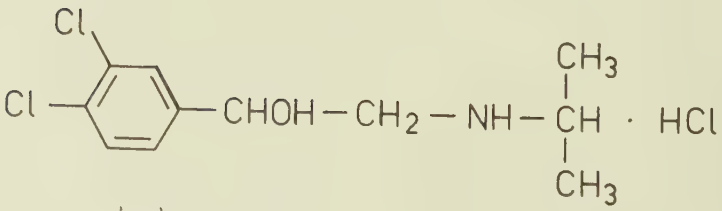
In dieser Arbeit sollte nun anhand von Zellorganellen (Mitochondrien), Substrukturen (ETP) und Organteilen (isolierte Vorhöfe) untersucht werden, ob die Substitution des Phenylringes bei Phenoxipropanolamin-ß-Rezeptorenblockern einen erkennbar systematischen Einfluß ausübt. Dabei wurden die spezifischen Wirkungen der ß-Rezeptorenblocker (ß-Adrenolyse, ISA bei isolierten Meerschweinchenvorhöfen) und die unspezifischen Wirkungen (Membranwirkung bei Mitochondrien, ETP und linken Meerschweinchenvorhöfen) miteinander verglichen.

2. Experimenteller Teil

2.1. Chemische Struktur der untersuchten ß-Rezeptorenblocker



Substanz	R_1	R_2
KL 255	Cl	CH_3
K 105 (KL 641)	Cl	H
K 164	CH_3	H
KL 357	F	H
KL 223	H	H
KL 254	NO_2	H
KL 200	O C-CH_3	H



3',4'-Dichlorisoproterenol (DCI)

Abb.4: Struktur der ß-Rezeptorenblocker

2.2. Unspezifische Parameter

2.2.1. Bestimmung des Verteilungskoeffizienten P in n-Octanol/Wasser als Maß für die Lipophilie der untersuchten ß-Rezeptorenblocker

Die untersuchten ß-Rezeptorenblocker wurden in einer Konzentration von 0,5 - 5 mMol/l in Sørensen-Phosphatpuffer (pH 7,4; 0,066 Mol/l) angesetzt. Jeweils vier Milliliter der wässrigen Phase wurden mit vier Millilitern (bei KL 255 zwei Millilitern) n-Octanol versetzt und 30 min bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach dem Zentrifugieren (Christ-Laborzentrifuge , 4000 Upm) wurden die Phasen getrennt und die Extinktion der wässrigen Phase im Vergleich zur Extinktion der Ausgangskonzentration gemessen. Die Messung erfolgte mit einem Beckmann-Spektralphotometer (Modell 25) jeweils im Bereich eines Absorptionsmaximums der Substanz gegen Phosphatpuffer als Referenz.
Der Verteilungskoeffizient P einer Substanz berechnet sich aus den gemessenen Werten nach der folgenden Formel (siehe auch Büchi et al., 1967):

$$P = \frac{C_{Octanol}}{C_{Puffer}} = \frac{Extinktion_{vorher} - Extinktion_{nachher}}{Extinktion_{nachher} \cdot f}$$

f entspricht dabei dem Verhältnis des Octanolvolumens zum Puffervolumen.

Die Ergebnisse zeigt die Tabelle 1.

Tab.1: Verteilungskoeffizienten P der untersuchten ß-Rezeptorenblocker in n-Octanol/Wasser bei Raumtemperatur. Die wässrige Phase enthält Sørensen-Phosphatpuffer pH 7,4; 0,066 Mol/l.
(Mittel aus vier Bestimmungen)

Substanz	Substituent	Wellenlänge (nm)	Konzentration der verwendeten Lösung (mMol/l)	$P \pm s_x$ (n=4)
KL 255	$-CH_3$, -Cl	277	0,5	10,91 ± 0,07
K 105	-Cl	274	0,5	3,61 ± 0,01
K 164	$-CH_3$	270	0,5	3,07 ± 0,04
KL 357	-F	268,5	5	0,95 ± 0,01
KL 223	-H	270	5	0,70 ± 0,01
KL 254	$-NO_2$	334,5	2,5	0,65 ± 0,01
KL 200	$-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_3$	307	2,5	0,50 ± 0,01

2.2.2. Einfluß der ß-Rezeptorenblocker auf die oxidative Phosphorylierung isolierter Lebermitochondrien

2.2.2.1. Präparation der Lebermitochondrien

Die Präparation der Lebermitochondrien und die Messung der oxidativen Phosphorylierung erfolgte analog der von Noack (1973) beschriebenen Methode.
Die Leber eines frisch getöteten Meerschweinchens wurde nach Entfernen der Gallenblase schnell herausgenommen und in gekühlten Puffer (ca. $0^{o}C$) folgender Zusammensetzung (mMol/l) gegeben: Mannit 210, Saccharose 80, Tris-HCl 10; pH 7,4. Dieser Puffer wurde auch weiterhin verwendet. Die folgende Präparation wurde im Kühlraum bei $4^{o}C$ durchgeführt. 12-13g Leber wurden mit der Schere zerkleinert und in 150 ml Puffer aufgenommen. Nach dem Homogenisieren (dreimal 0,5 sec, Ultra Turrax, 3000 Upm) erfolgte die Differentialzentrifugation, bei der zuerst 10 min bei 2200 Upm in einer Zentrifuge (Sorvall RC-2, Rotor SS 34) zentrifugiert wurde. Der Überstand wurde durch vierfache Gaze filtriert und erneut zentrifugiert (10 min bei 9000 Upm). Der nun erhaltene Überstand wurde verworfen, das Sediment mit Puffer gewaschen und in 15 bis 16 ml Puffer resuspendiert. Die so erhaltene Mitochondrienlösung wurde nach der Proteinbestimmung mit Biuret mit Puffer auf einen Gehalt von 12 mg Protein pro ml verdünnt. Die Suspension wurde bis zur Weiterverwendung in einem Dewargefäß mit Eiswasser gekühlt.

2.2.2.2. Messung der oxidativen Phosphorylierung isolierter Lebermitochondrien

Die quantitative Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs durch die isolierten Mitochondrien nach Zugabe von Adenosindiphosphat (ADP) erfolgte mit Hilfe der Clarkschen Sauerstoffelektrode bei 25°C (Weitere Ausführungen zur Theorie der Sauerstoffmessung siehe Noack, 1973). Im Versuchsansatz waren als Endkonzentrationen enthalten (mMol/l): Tris-Phosphat 5, $MgCl_2$ 5, Glutamat 10, Fumarat 2,5 in einem Endvolumen von 2,5 ml Puffer. Die variierenden ß-Rezeptorenblockerkonzentrationen wurden ebenfalls in Puffer angesetzt. Es wurde der bei der Mitochondrienpräparation beschriebene Puffer eingesetzt.

Nach dem Messen der Grundatmung wurden 1,15 µMol ADP zugegeben. Die state-4-Atmung (=Grundatmung) geht dadurch in die state-3-Atmung (=oxidative Phosphorylierung) über und kehrt nach dem Verbrauch des ADP wieder zur Grundatmung zurück. Die Auswertung erfolgte mit dem Wang-Tischrechner, Modell 600-12 TP nach Noack (1973).

Ein Beispiel für die Auswirkung der Hemmung der oxidativen Phosphorylierung duch Zugabe von ß-Rezeptorenblockern zeigt die Originalregistrierung (Abb.5).

Die Konzentrationshemmkurven für die einzelnen ß-Rezeptorenblocker sind in Abb.6 dargestellt. Die ED_{25}, ED_{50}, ED_{75}, die rechnerisch durch die Logittransformation nach Hafner et al. (1977) bestimmt wurden, zeigt Tabelle 2.

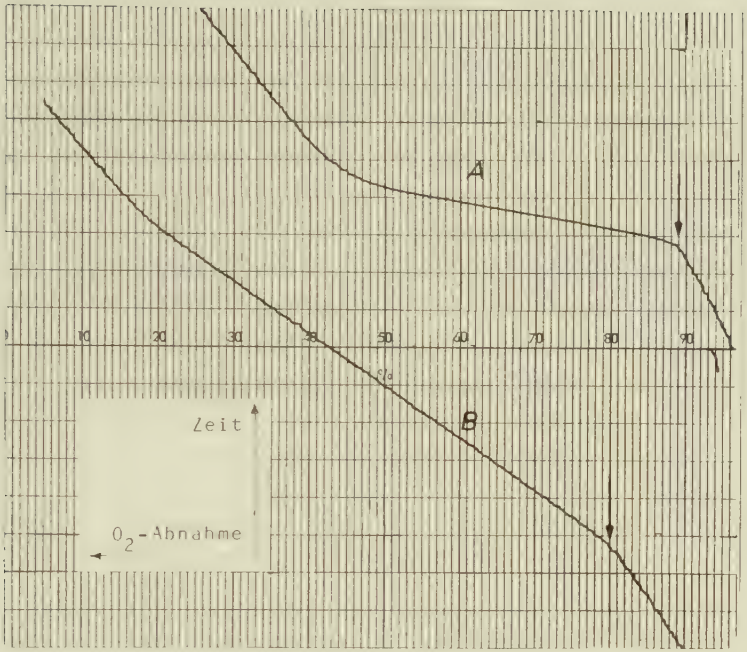


Abb.5: Originalregistrierung der Hemmung isolierter Lebermitochondrien durch den ß-Rezeptorenblocker KL 254.
Substrate (mMol/l): Glutamat 10, Fumarat 2,5
Protein: 6 mg pro Ansatz (2,5 ml Endvolumen)
Barometerstand: 769 mm Hg
Temperatur: 25°C
Der Pfeil zeigt die Zugabe von 1,15 µMol ADP.

Kurve A: Kontrolle; Kurve B: Zugabe von 6,4 mMol/l KL 254. Es resultiert eine Restaktivität der aktivierten Atmung von 14,45 %.

Es wurde durch keinen der ß-Rezeptorenblocker eine Entkoppelung der oxidativen Phosphorylierung beobachtet. Der respiratorische Quotient (Verhältnis von state-3-Atmung zu state-4-Atmung) betrug im Mittel bei allen Präparationen 6,71 $\pm$ 0,31.

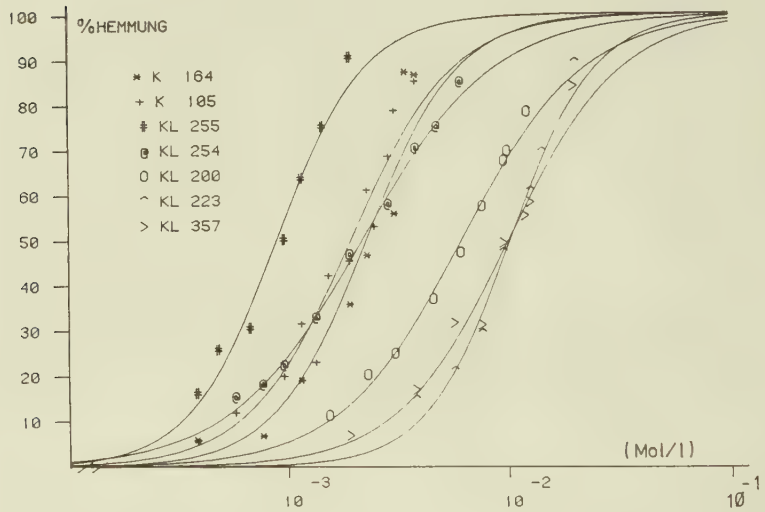


Abb.6: Prozentuale Hemmung der oxidativen Phosphorylierung (state-3-Atmung) isolierter Lebermitochondrien durch ß-Rezeptorenblocker. Der Übergang in die aktivierte Atmung erfolgte durch Zugabe von 1,15 µMol ADP.

Tab.2: Hemmkonzentrationen der verschiedenen ß-Rezeptorenblocker, die die Geschwindigkeit der oxidativen Phosphorylierung von 1,15 µMol ADP um 25, 50 und 75% hemmen.
(isolierte Lebermitochondrien des Meerschweinchens)

Substanz	Substituent	ED_{25} (mMol/l)	ED_{50} (mMol/l)	ED_{75} (mMol/l)
KL 255	$-CH_3$, -Cl	0,54	0,89	1,48
K 105	-Cl	1,07	1,94	3,52
K 164	$-CH_3$	1,34	2,29	3,90
KL 357	-F	5,30	10,1	19,4
KL 223	-H	6,32	10,3	16,8
KL 254	$-NO_2$	1,02	2,19	4,69
KL 200	$-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_3$	3,06	6,20	12,6

2.2.3. Beeinflussung der $NADH+H^+$-Oxidation elektronentransportierender Partikel (ETP) aus Rinderherzen

Die Präparation der elektronentransportierenden Partikel (ETP) erfolgte nach Müller et al.(1977).
Die Messung der Beeinflussung der $NADH+H^+$-Oxidation erfolgte in Anlehnung an das bei Noack et al. (1980) beschriebene Verfahren. In einem Gesamtvolumen von 2,5 ml wurden 0,205 mg

Eiweiß (ETP-Präparation), 1,34 µMol $NADH+H^+$ und der bei der Mitochondrienpräparation verwendete Puffer zusammengegeben. Die unspezifische Hemmung der ETP durch bei der Präparation freigesetzte Phospholipide konnte durch 0,2%iges Rinderserumalbumin vermindert werden, so daß nur 0,04 mg ETP pro Ansatz gebraucht wurden. Nach Messung der Grundatmung wurden variierende Konzentrationen der zu untersuchenden ß-Rezeptorenblocker zum Versuchsansatz gegeben und die Abnahme der $NADH+H^+$-Oxidation der ETP bestimmt.
Es wurde stets bei einigen Konzentrationen der ß-Rezeptorenblocker geprüft, daß deren Wirkung nicht durch das zugefügte Rinderserumalbumin vermindert wurde.
Eine Originalregistrierung eines Versuchs zeigt die Abb.7.
Die Ergebnisse der vergleichenden Betrachtung zeigen Abb.8 und Tabelle 3.

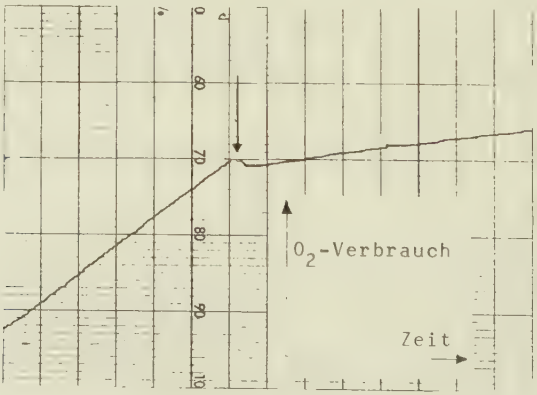


Abb.7: Originalregistrierung zur Hemmung der $NADH+H^+$-Oxidation bei ETP durch den ß-Rezeptorenblocker KL 254.
Pfeil: Zugabe von KL 254 (Endkonzentration 3 mMol/l), danach deutliche Hemmung der $NADH+H^+$-Oxidation.

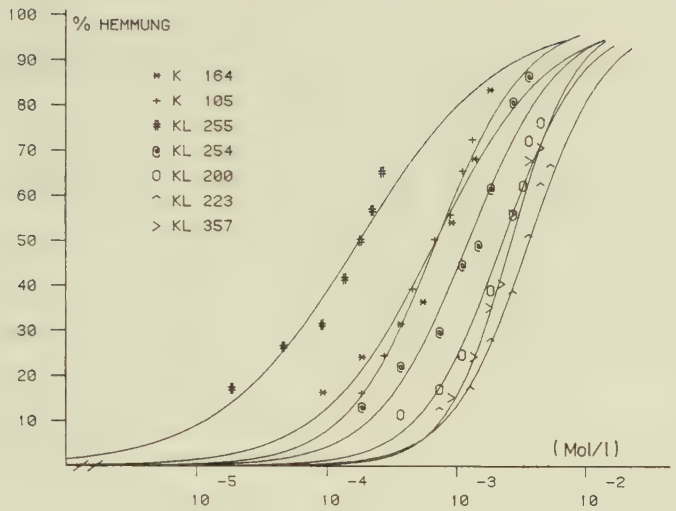


Abb.8: Darstellung der Konzentrationshemmkurven der NADH+H^+-Oxidation der ETP aus Rinderherzen durch ß-Rezeptoren blocker.

Tab.3: Beeinflussung der NADH+H^+-Oxidation der ETP aus Rinderherzen, Hemmung um 25 und 50 %.

Substanz	Substituent	ED_{25} (10^{-4} Mol/l)	ED_{50} (10^{-4} Mol/l)
KL 255	$-CH_3$, -Cl	0,45	1,74
K 105	-Cl	2,92	6,91
K 164	$-CH_3$	2,26	6,79
KL 357	-F	14,1	26,2
KL 223	-H	17,0	36,0
KL 254	$-NO_2$	5,03	12,2
KL 200	$-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_3$	10,2	22,5

2.2.4. Untersuchungen an isolierten, elektrisch gereizten linken Meerschweinchenvorhöfen

2.2.4.1. Einfluß der ß-Rezeptorenblocker auf die Kontraktionskraft (negativ inotrope Wirkung)

Für die Versuche am isolierten linken Vorhofpräparat wurden männliche Meerschweinchen mit einem Gewicht zwischen 340 und 450 g verwendet. Die Präparation erfolgte modifiziert nach Greeff et al. (1959). Die Meerschweinchen wurden durch einen Nackenschlag getötet und entblutet. Thorax und Perikard wurden rasch eröffnet, die Herzspitze eingeschnitten, das Herz an der Herzbasis von den Gefäßen getrennt und zur endgültigen Präparation in eine Schale mit Krebs-Henseleit-Lösung, die mit Carbogen (5% CO_2, 95% O_2) durchspült wurde, überführt. Die Vorhöfe wurden mit 1 g Vorspannung in ein mit Carbogen durchspültes Bad mit einer Krebs-Henseleit-Lösung folgender Zusammensetzung gegeben (mMol/l): NaCl 118,5; KCl 4,74; $CaCl_2$ 2,56; $MgSO_4$ 1,19; KH_2PO_4 1,19; $NaHCO_3$ 24,9; Glucose 10,1.
Die Reizung der präparierten Vorhöfe erfolgte mit Rechteckimpulsen von 3 msec Dauer, einer Reizfrequenz von 1,5 Hz und einer fünffachen Schwellenstromstärke. (Bei höheren ß-Blockerkonzentrationen traten bei eineinhalbfacher Schwellenstromstärke oft Rhythmusstörungen auf.) Die Kontraktionskraft wurde über isometrische Statham-Elemente (UC 2B) auf einen Hellige-Direktschreiber aufgezeichnet. Die Versuchstemperatur betrug 30°C, das Badvolumen 10 ml,

unter den Versuchsbedingungen stellte sich ein pH-Wert von 7,4 ein.
Nach einer Äquilibrierungszeit von ca. 90 min wurden die verschiedenen ß-Rezeptorenblocker (in Krebs-Henseleit-Lösung gelöst) jeweils kumulativ nach Erreichen eines Gleichgewichtszustandes zugegeben. Die Einwirkdauer wurde aber nicht länger als 30 min gewählt (siehe Kaumann und Blinks, 1980a).

2.2.4.2. Zeitabhängige Abnahme der Kontraktionskraft der isolierten linken Vorhöfe

Um die pharmakonbedingte Abnahme der Kontraktionskraft von derjenigen unterscheiden zu können, die physiologischerweise mit zunehmender Versuchsdauer auftritt, wurden vier linke Meerschweinchenvorhöfe in der oben beschriebenen Weise präpariert und ohne Pharmakonzugabe sieben Stunden lang unter Versuchsbedingungen beobachtet.
Die Kontraktionskraft der isolierten, elektrisch gereizten linken Vorhöfe verhielt sich dabei folgendermaßen:
Zuerst war im Durchschnitt während 140 min keine Veränderung der Kontraktionskraft zu beobachten. Dann erfolgte eine Abnahme von 11% pro Stunde, nach fünf Stunden blieb die Kontraktionskraft relativ konstant.
Zur Berechnung der Wirkung der ß-Rezeptorenblocker auf die Kontraktionskraft wurde diese spontane Abnahme der Kontraktionskraft berücksichtigt. Es konnte unter den Versuchsbedingungen kein Unterschied in der Stabilität der

Vorhöfe zwischen einer Reizung mit eineinhalbfacher und fünffacher Schwellenstromstärke gefunden werden.
Die Ergebnisse der Untersuchungen der negativ inotropen Wirkung der ß-Rezeptorenblocker am linken Meerschweinchenvorhof zeigen Abb.9 und Tab.4.

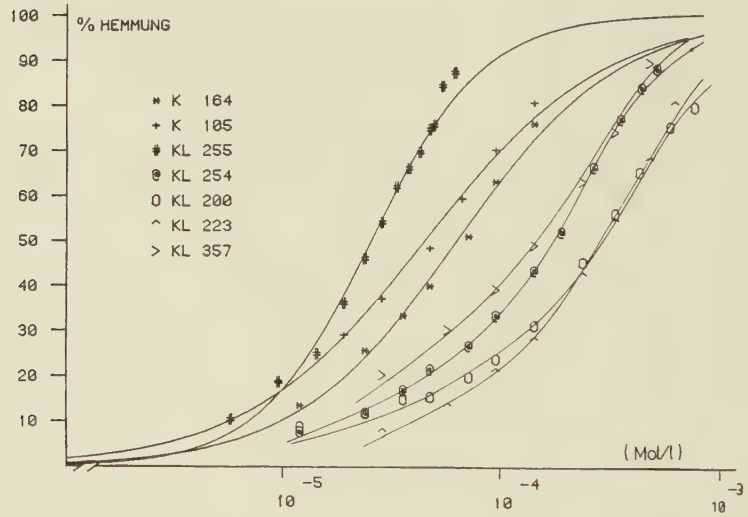


Abb.9: Konzentrationshemmkurven von sieben ß-Rezeptorenblockern (negativ inotrope Wirkung) am isolierten linken Meerschweinchenvorhof.
(Mittelwerte aus 3 bis 4 Versuchen)

Tab.4: Hemmung der Kontraktionskraft isolierter linker Meerschweinchenvorhöfe durch ß-Rezeptorenblocker um 25 und 50%.

Substanz	Substituent	ED_{25} (10^{-5} Mol/l)	ED_{50} (10^{-5} Mol/l)
KL 255	$-CH_3$, -Cl	1,29	2,53
K 105	-Cl	1,60	4,52
K 164	$-CH_3$	2,49	6,35
KL 357	-F	4,67	12,9
KL 223	-H	11,6	28,0
KL 254	$-NO_2$	5,93	15,0
KL 200	$-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_3$	7,98	25,2

2.3. Untersuchungen zur spezifischen Wirkung der ß-Rezeptorenblocker

2.3.1. Stabilität des Versuchsmodells und intrinsische Aktivität der ß-Rezeptorenblocker

2.3.1.1. Bestimmung der zeitabhängigen Abnahme der Schlagfrequenz der isolierten rechten Vorhöfe

Die Präparation der isolierten, spontan schlagenden rechten Vorhöfe wurde analog der Präparation der linken Vorhöfe durchgeführt.

Es wurden männliche Meerschweinchen mit einem Gewicht von 230 bis 430 g mit Reserpin (8 mg pro kg Körpergewicht i.m. 17 bis 24 Stdn. vor Versuchsbeginn) vorbehandelt, um die endogenen Katecholaminspeicher zu leeren. Die Vorhöfe wurden mit 1 g Vorspannung in ein Bad mit Krebs-Henseleit-Lösung (Zusammensetzung siehe oben, angesetzt in Aqua bidest., unter Hinzufügen von 100 µMol/l EGTA) gegeben.
Zur Bestimmung der Stabilität des Versuchsmodells wurden rechte Vorhöfe unter Versuchsbedingungen ohne Pharmakonzugabe 430 min lang beobachtet. Man sieht hierbei einen Abfall der Frequenz in den ersten 75 min (von 188 $\pm$ 2,3 min^{-1} auf 150 $\pm$ 1,5 min^{-1}, n = 4), danach bleibt die Frequenz im Bereich von 146 bis 152 min^{-1} mindestens 360 min lang konstant und steigt dann sehr langsam wieder an.
Damit ist gewährleistet, daß unter den Versuchsbedingungen zur Bestimmung der intrinsischen Aktivität im Bereich der niedrigen ß-Rezeptorenblocker-Konzentrationen mit den längeren Inkubationszeiten (s.u.) eine beobachtete Frequenzerhöhung tatsächlich durch den ß-Rezeptorenblocker hervorgerufen wurde.

2.3.1.2. Bestimmung der intrinsischen Aktivität (ISA) der ß-Rezeptorenblocker

Die spontan schlagenden rechten Vorhöfe wurden in der eben beschreibenen Weise präpariert. Nach einer Einschlagzeit von 150 min (Badwechsel nach 30, 60, 80 min) wurden die ß-Rezeptorenblocker in einem Konzentrationsbereich von 10^{-9} Mol/l

beginnend, kumulativ bis zur deutlich negativ chronotropen Wirkung zugegeben. Die Pharmakonlösungen enthielten, wie auch die verwendete Krebs-Henseleit-Lösung, 100 µMol/l EGTA, um störende Einflüsse durch Schwermetallionen zu verhindern. Die Einwirkdauer betrug: bei 10^{-9}, $6x10^{-9}$, 10^{-8}Mol/l 60 min, bei $4x10^{-8}$Mol/l 40 min, bei 10^{-7}Mol/l 30 min, bei $4x10^{-7}$Mol/l und bei höheren Konzentrationen 15 bis 20 min. Die erhaltenen Werte zeigt Tabelle 5. Die maximale absolute Erhöhung der Schlagfrequenz durch (-)Isoproterenol (123,2 $\pm$ 19,1 min^{-1}, n = 42) wurde gleich 1 gesetzt und die ISA der untersuchten ß-Rezeptorenblocker im Verhältnis dazu bestimmt.

Tab.5: Intrinsische Aktivität der untersuchten ß-Rezeptorenblocker

Substanz	Substituent	n	Erhöhung der Frequenz (min^{-1})	ISA
IPN	3',4'-OH	42	123,2	1
DCI	3',4'-Cl	4	43,5	0,4
KL 255	$-CH_3$, -Cl	3	0	0
K 105	-Cl	5	32,3	0,3
K 164	$-CH_3$	5	25,0	0,2
KL 357	-F	5	39,3	0,3
KL 223	-H	3	28,0	0,2
KL 254	$-NO_2$	3	22,0	0,2
KL 200	$-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_3$	3	40,0	0,3

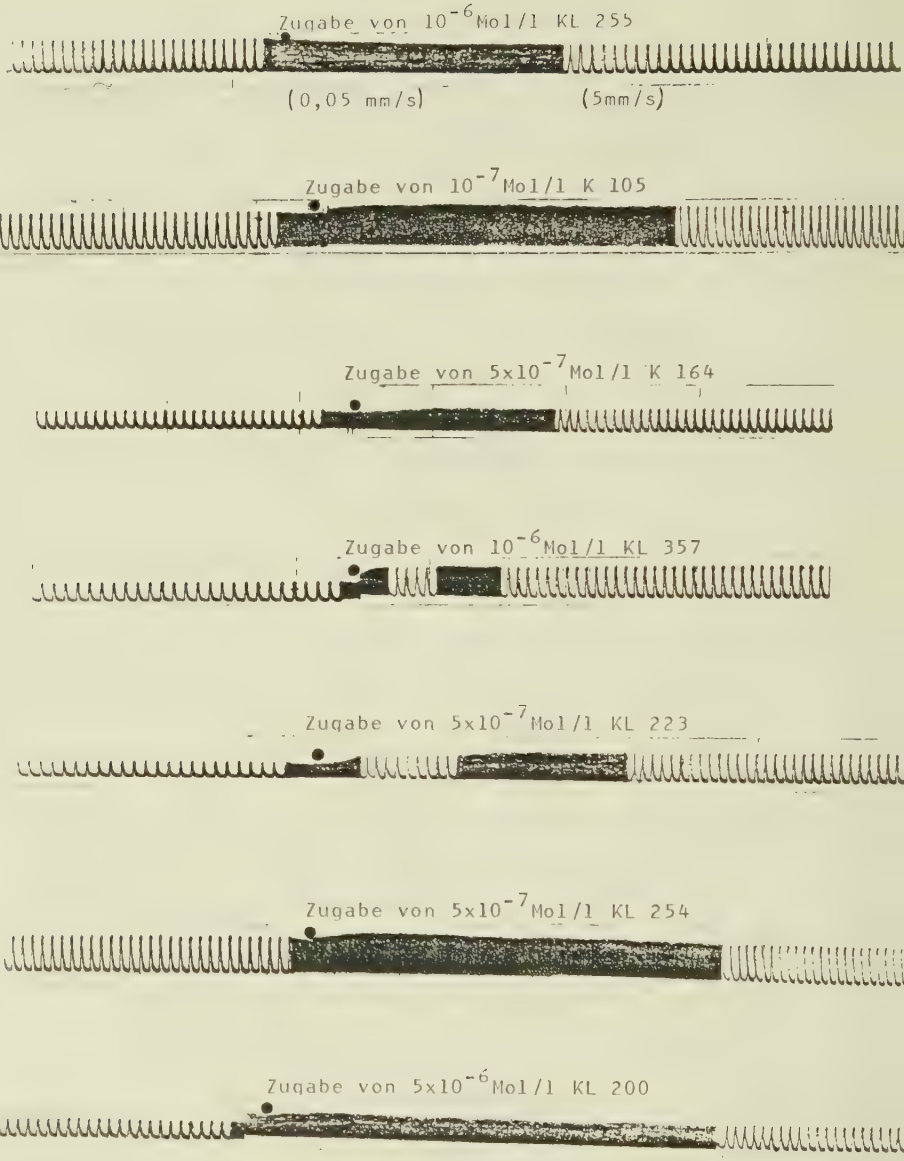


Abb.10: Darstellung des positiv inotropen und chronotropen Effektes der untersuchten ß-Rezeptorenblocker im Gegensatz zu KL 255 (Originalregistrierung re. Vorhöfe)

Als Vergleichssubstanz zur Bestimmung der ISA wurde (±)DCI gewählt, das beim Meerschweinchen die stärkste bekannte ISA zeigt (Kaumann et al., 1978).
Die Abb.10 zeigt deutlich den positiv inotropen und chronotropen Effekt der untersuchten ortho-substituierten ß-Rezeptorenblocker bei einmaliger Gabe einer wirksamen Dosis.

2.3.2. Bestimmung der Gleichgewichtsdissoziationskonstanten

2.3.2.1. Bestimmung der Gleichgewichtsdissoziationskonstanten K_B für KL 255

Da KL 255 keine intrinsische Aktivität zeigte, wurde seine Gleichgewichtsdissoziationskonstante mit der Methode für reine Antagonisten (d.h. ISA = 0) bestimmt.

Theoretische Grundlagen:

Die Gleichgewichtsdissoziationskonstante für einen Rezeptor-Pharmakon-Komplex ist ein quantitatives Maß für die Affinität einer Substanz (Agonist, Antagonist oder partieller Agonist) zum Rezeptor. Je kleiner die Konstante ist, desto höher ist die Affinität zum Rezeptor. Es gilt allgemein, daß die Gleichgewichtsdissoziationskonstante K der reziproken Affinitätskonstanten entspricht.
Nach der allgemeinen Rezeptortheorie vergleicht man die Wechselwirkung eines Pharmakons mit seinem Rezeptor mit einem Schlüssel, der in ein Schloß passen soll, wobei in dieser Arbeit der Schlüssel dem ß-Rezeptorenblocker ent-

spricht. Paßt der Schlüssel, kann man dies als Affinität bezeichnen, schließt er das Schloß auf, so entspricht diese Wirkung der intrinsischen Aktivität (d.h. dem maximal möglichen Effekt eines Arzneimittels). Somit würden reine Antagonisten wohl "ins Schloß passen", aber keine Wirkung (intrinsische Aktivität) zeigen ("nicht aufschließen").
Die quantitative Annäherung an die Pharmakon-Rezeptor-Wechselwirkung hat als Grundlage die Michaelis-Menten-Enzymkinetik. Wie bei der Bildung des Enzym-Substrat-Komplexes ist auch in den folgenden Überlegungen ein reversibel gebildeter Pharmakon-Rezeptor-Komplex Voraussetzung.
Aus der Verschiebung der ED_{50} des Agonisten A (bei diesen Untersuchungen (-)IPN) in Gegenwart des reinen Antagonisten B (hier KL 255, ISA = 0) läßt sich die Gleichgewichtsdissoziationskonstante K_B für den Rezeptor-Antagonist-Komplex bestimmen. (-)IPN wurde als Agonist gewählt, weil keine neuronale oder extraneuronale Aufnahme des ß-Mimetikums erfolgt (Iversen, 1971).
Wird die Isoproterenol-Konzentration, die die halbmaximale Wirkung in Gegenwart und in Abwesenheit des Antagonisten B erzeugt, als $ED_{50}(A_B)$ und $ED_{50}(A)$ bezeichnet, so gilt:

$$K_Q = \frac{ED_{50}\ (A_B)}{ED_{50}\ (A)}$$

Nach den Grundlagen der Rezeptortheorie (siehe Bacq, 1971) gilt dann allgemein:

$$K_B = \frac{B}{K_Q - 1}$$

B entspricht dabei der eingesetzten Konzentration des Antagonisten. Durch Logarithmieren kommt man zur Gleichung für den Schildplot (siehe auch Arunlakshana und Schild, 1959; Schild, 1947):

$$\log (K_Q - 1) = -\log K_B + \log B \quad ,$$

wobei $-\log K_B$ gleich pA_2 ist und damit

$$\log (K_Q - 1) = pA_2 + \log B \, .$$

Trägt man nun die gewählten Konzentrationen des Antagonisten log B (Abzisse) gegen log $(K_Q - 1)$ (Ordinate) auf, so erhält man eine Gerade, deren Schnittpunkt mit der x-Achse dem pA_2-Wert entspricht. Ist die Steigung der Geraden gleich 1, so liegt ein kompetitiver Antagonismus am ß-Rezeptor vor. Bei der kompetitiven Hemmung zwischen zwei Substanzen (hier zwischen (-)IPN und KL 255) ist damit die Wirkung am selben Rezeptor bewiesen (s.u.).

Versuchsdurchführung:

Spontan schlagende rechte Meerschweinchenvorhöfe wurden in der üblichen Weise präpariert und ca. 120 min äquilibriert (in Krebs-Henseleit-Lösung der oben genannten Zusammensetzung mit 100 µMol/l EGTA).

Danach wurde die erste Konzentrations-Wirkungskurve mit dem Agonisten (-)IPN (Stammlösung 10^{-2} Mol/l, 100 µMol/l EGTA,

mit 0,1 N HCl auf pH 4 angesäuert) ermittelt (Kontrollkurve). Das IPN wurde durch mehrmaligen Badwechsel ausgewaschen, bis eine Frequenz in der Nähe der Ausgangsfrequenz erhalten wurde. Der zugegebene ß-Rezeptorenblocker KL 255 in steigenden Konzentrationen (10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6} Mol/l Badkonzentration) konnte jeweils 80 min einwirken. Bei jeder der angegebenen Konzentrationen von KL 255 wurde eine neue Dosis-Wirkungskurve mit (-)IPN ermittelt, die sich zu immer höheren IPN-Konzentrationen verschob (siehe Abb.11).

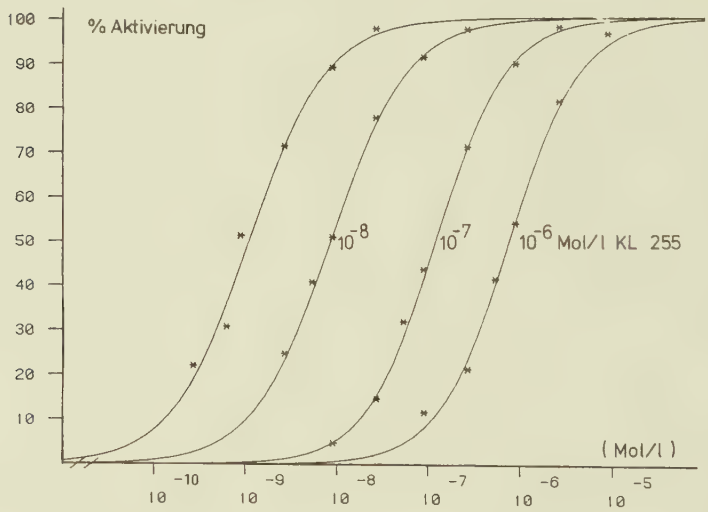


Abb.11: Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungskurve mit (-)IPN in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen des reinen Antagonisten KL 255. (n=4)

Die Auftragung der Ergebnisse als Schildplot (Abb.12) ergibt einen pA_2-wert von 8,89 bei einer Steigung von 1,01. Zum Vergleich fanden Kaumann, McInerny et al. (1980) für den spontan schlagenden rechten Vorhof des Meerschweinchens einen Wert von 9,1.

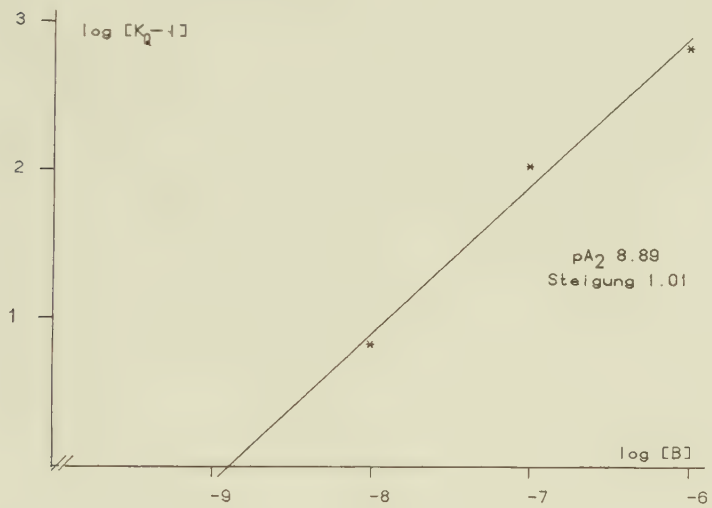


Abb.12: Auswertung des Versuchs, der in Abb.11 dargestellt wurde, mit dem Schildplot.

2.3.2.2. Bestimmung der Gleichgewichtsdissoziationskonstanten K_P für partielle Agonisten

Da die untersuchten ortho-substituierten ß-Rezeptorenblocker eine intrinsische Aktivität aufwiesen, konnte ihre Gleichgewichtsdissoziationskonstante nicht in der eben beschriebenen Weise bestimmt werden.

Theoretische Grundlagen:

Die stimulierenden Effekte der partiellen Agonisten bewirken eine vertikale Stauchung der Dosis-Wirkungskurve für den Agonisten (hier (-)IPN). Stephenson (1956) fand unter der Annahme, daß es für den Agonisten viele und für den partiellen Agonisten keine Ersatzrezeptoren (spare-receptors) gibt, eine Methode, K_P zu bestimmen. Partielle Agonisten verbinden sich mit dem ß-Rezeptor, haben aber bei keiner Konzentration eine so große Wirkung wie die vollen Agonisten (Katecholamine). Marano und Kaumann (1976) entwickelten eine modifizierte Methode, K_P zu bestimmen, die in dieser Arbeit angewendet wurde. Diese Technik wird allgemein zur Bestimmung der Gleichgewichtsdissoziationskonstanten K_P für partielle Agonisten verwendet, kann aber auch zur Bestimmung von K_B für reine Agonisten genommen werden (Kaumann und Blinks, 1980b).

Voraussetzung ist die absolute Reproduzierbarkeit der Konzentrations-Wirkungskurven für Agonisten. Trägt man gleicheffektive (-)IPN-Dosen in Gegenwart und Abwesenheit des partiellen Agonisten gegeneinander auf, so erhält man eine Gerade mit der Steigung $m = 1 - y_P$, wobei y_P der fraktionellen Rezeptorenbesetzung entspricht.

Eine Methode, mit mathematisch-statistischen Mitteln die Gerade zu bestimmen, ist bei Marano und Kaumann (1976) beschrieben.

Mit y_P kann man die Gleichgewichtsdissoziationskonstante K_P für partielle Agonisten bestimmen:

$$K_P = \frac{P}{y_P} - P$$

P entspricht der eingesetzten Konzentration des partiellen Agonisten.

Versuchsdurchführung:

Es wurden männliche Meerschweinchen mit einem Gewicht von 240 bis 370 g für den Versuch reserpinisiert.
Die Präparation der rechten Vorhöfe erfolgte in der üblichen Weise. Nach einer Äquilibrierungszeit von ca. 150 min wurde, wie oben beschrieben, eine Dosis-Wirkungskurve für (-)IPN ermittelt. Nach dem Auswaschen des Agonisten bis zu einer Frequenz nahe der des Ausgangswertes wurde der partielle Agonist einmalig in einer Dosis zugegeben. Die gewählten ß-Rezeptorenblocker-Konzentrationen lagen zwischen 10^{-7} und $5x10^{-6}$ Mol/l Endkonzentration. Nach einer Äquilibrierungszeit von 80 min wurde die zweite Dosis-Wirkungskurve für (-)IPN in Gegenwart des partiellen Agonisten ermittelt.
Die im Versuch verwendeten Konzentrationen des ß-Rezeptorenblockers wurde jeweils so gewählt, daß die durch (-)IPN erreichte maximale Schlagfrequenz nach Agonistenzugabe um höchstens 9% niedriger war als vor Agonistenzugabe. Man muß sonst eine zu starke unspezifische negativ chronotrope Wirkung erwarten.
Die Abb.13 zeigt Summenkurven (n = 3) zweier untersuchter Substanzen als Beispiele.
Tabelle 6 gibt die mit der Methode von Marano und Kaumann (1976) berechneten Werte für K_P an.

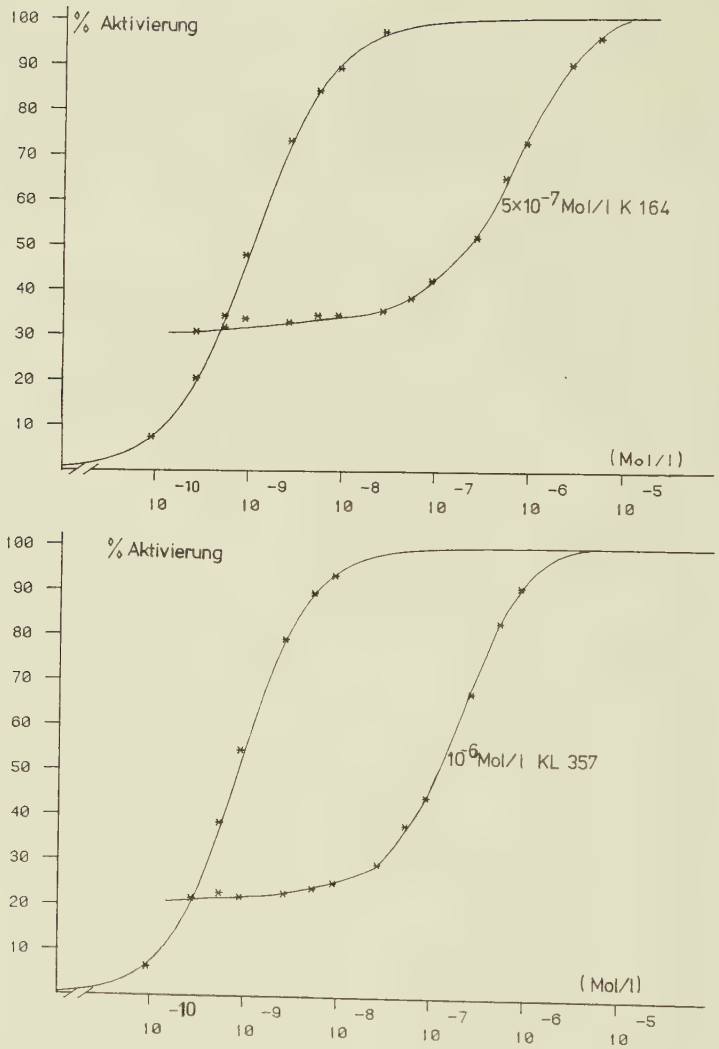


Abb.13: Bestimmung der Gleichgewichtsdissoziationskonstanten K_p für partielle Agonisten (zwei Summenkurven (n=3) als Beispiele). Die zweite DWK für (-)IPN wurde in Gegenwart der angegebenen ß-Rezeptorenblocker-Konzentrationen erstellt.

Tab.6: Gleichgewichtsdissoziationskonstanten K_p für partielle Agonisten (Mittelwerte aus 3 bis 4 Versuchen)

Substanz	Substituent	-log K_p	K_p (nMol/l)
K 105	-Cl	9,14 ± 0,05	0,73
K 164	$-CH_3$	8,86 ± 0,09	1,38
KL 357	-F	8,32 ± 0,07	4,78
KL 223	-H	8,09 ± 0,06	8,18
KL 254	$-NO_2$	8,79 ± 0,05	1,64
KL 200	$-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_3$	8,33 ± 0,09	4,71

2.3.2.3. Reproduzierbarkeit der Dosis-Wirkungskurve für (-)IPN als Maß für eine zu erwartende Desensibilisierung der rechten Vorhöfe

Kaumann und Blinks (1980b) und Kaumann und McInerny (1980) zeigen, daß sich rechte Vorhöfe am ehesten für Langzeitversuche eignen. Diese Aussage konnte anhand eines exemplarischen Einzelversuches auch für das hier verwendete System bestätigt werden.

Hierzu wurde mit dem rechten Vorhof nach einer Äquilibrierungszeit von 120 min eine Dosis-Wirkungskurve für (-)IPN ermittelt. Nach dem Auswaschen des (-)IPN bis zu einer

Frequenz nahe der des Ausgangswertes wurde nach 80 min eine zweite Dosis-Wirkungskurve für (-)IPN aufgenommen, um beurteilen zu können, ob sich die ED_{50} zu höheren Werten verschiebt (s. Abb. 14).

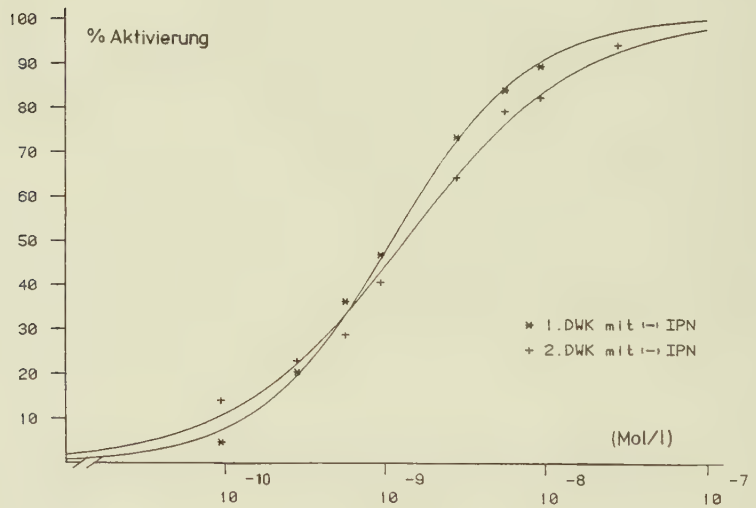


Abb.14: Untersuchung zur Reproduzierbarkeit der Dosis-Wirkungskurve für (-)IPN am rechten Meerschweinchenvorhof.
Die Kurven wurden im Abstand von 80 min angefertigt. Nach der ersten DWK wurde das (-)IPN ausgewaschen.

Es ergab sich demnach keine Desensibilisierung der kardialen ß-Rezeptoren des rechten Vorhofes durch (-)IPN.

2.4. Reagenzien

ß-Rezeptorenblocker und ß-Mimetika

3',4'-Dichlorisoproterenol-HCl (Boehringer Sohn, Ingelheim);
(-)Isoprenalin-D-bitartrat (Sigma, Taufkirchen);
KL 255, 254, 200, 223, 357, K 105 (KL 641), K 164 · HCl
(Pharma-Schwarz GmbH, Monheim).

Weitere Substanzen

KCl p.A.; $MgSO_4$ p.A.; KH_2PO_4 p.A.; Na_2HPO_4 p.A.;
n-Octanol, spektroskopisch rein; Mannit, Saccharose, reinst;
Tris-(hydroximethyl)-aminomethan p.A.; Titriplex VI (EGTA)
p.A.; Glutaminsäure p.A. (alle Merck AG, Darmstadt);
ADP, Dinatriumsalz; NADH, Dinatriumsalz (Boehringer, Mannheim);
Albumin aus Rinderserum, lyophil. rein (Serva, Heidelberg);
Calciumchlorid (Cassella-Riedel Pharma GmbH, Frankfurt);
Fumarsäure, Dinatriumsalz p.A. (Fluka AG, Buchs);
Reserpin (Serpasil Injektionslösung 2,5 mg/ml, CIBA-Geigy,
Basel).

3. Diskussion

3.1. Beschreibung der untersuchten Struktur-Wirkungsbeziehungen

Zur Untersuchung der möglichen Zusammenhänge von Struktur und Wirkung wurden in dieser Arbeit die in Tab.7 zusammengefaßten Parameter verwendet (siehe S.53).

Erläuterung der Tabelle:

Die Bedeutung der lipophilen Parameter log P und π wurde in der Einleitung beschrieben. Dabei entsprechen die π_{He}-Werte den aus den gemessenen Verteilungskoeffizienten nach $\pi_X = \log P_X - \log P_H$ (siehe Einleitung) bestimmten Hydrophobizitätskonstanten, π_{Ha}-Werte wurden zum Vergleich aus einer Arbeit von Hansch et al. (1973) entnommen. Die gute Korrelation zwischen den π_{He}- und den π_{Ha}-Werten gibt die Abb.15 wieder. Nach Hansch et al. (1973) sind die Unterschiede der π-Werte von Substituenten an verschiedenen aromatischen Systemen nicht so erheblich, wie auch hier aufgezeigt wurde (π_{He}: substituierte Phenole, π_{Ha}: substituierte Aniline).

π-Werte von substituierten Phenolen, in dieser Arbeit den Phenoxipropanolaminderivaten entsprechend, sind in der Literatur nur unvollständig zu finden (siehe Norrington et al., 1975).

Subst.	log P	π_{He}	π_{Ha}	MR	MV	σ	L	B_1	B_2	B_3	B_4
KL 255	1,04	1,19	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K 105	0,56	0,71	0,71	6,03	22,96	0,68	3,52	1,80	1,80	1,80	1,80
K 164	0,49	0,64	0,56	5,65	31,48	-0,13	3,00	1,52	1,90	1,90	2,04
KL 357	-0,02	0,13	0,14	0,92	15,11	0,54	2,65	1,35	1,35	1,35	1,35
KL 223	-0,16	0	0	1,03	14,90	0	2,06	1,00	1,00	1,00	1,00
KL 254	-0,19	-0,03	-0,28	7,36	24,5.	1,24	3,44	1,70 (2,44)	1,70	2,44	2,44
KL 200	-0,30	-0,15	-0,55	11,18	41,69	-	4,06	1,90 (2,36)	1,90	2,36	2,93

Tab.7: Parameter, die zur Untersuchung der Struktur-Wirkungsbeziehungen angewendet wurden

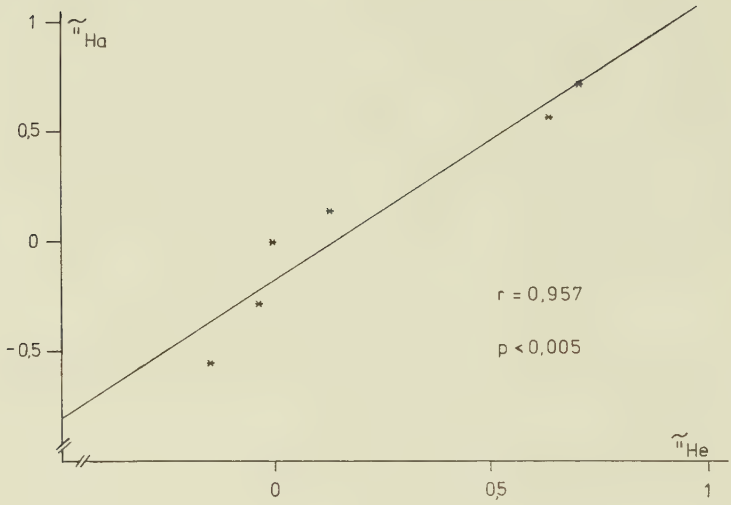


Abb.15: Beziehung zwischen den nach $\pi_X = \log P_X - \log P_H$ bestimmten π_{He}-Werten und den der Literatur entnommenen π_{Ha}-Werten (Hansch et al., 1973).

MV und MR sind nur grob abgeschätzte Parameter für Masse und Umfang der Substituenten, die Hansch et al.(1973) nur als Zwischenlösung ansehen. Besser werden sterische Einflüsse durch das Sterimol-Programm (Verloop et al., 1976) beschrieben. Die hierbei benutzten Parameter L, B_{1-4} berücksichtigen die Ausdehnung der Substituenten in Richtung der Bindungsachse L als Summe der Bindungslänge und des van der Waals-Radius und in senkrecht darauf stehenden Richtungen B_{1-4} als Breite-Parameter der Substituenten.

Die Werte in Klammern bei den B_1-Werten von KL 254 und KL 200 berücksichtigen, daß der Acetyl- und der Nitro-Substituent aus sterischen Gründen nicht frei rotieren kann. Man nimmt dann zur besseren Beschreibung B_3 statt B_1 (Verloop et al., 1976).

Die Hammett-Konstante σ ist als Zusammenfassung zweier elektronischer Komponenten zu sehen (siehe Tab.8):

a) dem induktiven Effekt, der über σ-Bindungen wirkt und am stärksten an benachbarten Atomen angreift,

b) dem mesomeren Effekt, der über π-Bindungen vermittelt wird und weitreichender ist.

Tab.8: Mesomere und induktive Effekte der untersuchten ß-Rezeptorenblocker

Substanz	Substituent in ortho-Stellung	Substituenteneffekt	
K 105	-Cl	-I	+M
K 164	$-CH_3$	+I	-
KL 357	-F	-I	+M
KL 223	-H	-	-
KL 254	$-NO_2$	-I	-M
KL 200	$-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_3$	+I -I	- ($-CH_3$) -M (-O)

Der +M-Effekt und der -I-Effekt ist bei Cl weniger ausgeprägt als bei F. Bis vor kurzem wurden σ-Werte in ortho-Position als nicht besonders aussagekräftig für die elektronischen Einflüsse angesehen, da man glaubte, daß sich bei der Hammett-Konstanten der ortho-Position elektronische und sterische Einflüsse vermischten. Charton (1969) zeigte jedoch, daß der ortho-Substituenten-Effekt bei aromatischen Ringen rein elektronischer Natur ist.

In dieser Arbeit wurde keine multiple Regressionsanalyse vorgenommen, da nach Topliss (1972) eine bestimmte Anzahl an untersuchten Substanzen pro sterischem, lipophilem oder elektronischem Parameter nicht unterschritten werden darf, da sonst Zufallskorrelationen auftreten. So wurde hier die gemessene biologische Wirkung der ß-Rezeptorenblocker stets nur mit einem Parameter der untersuchten Substanzen korreliert.

Weder die sterischen noch der elektronische Parameter ergaben bei den fünf ortho-substituierten ß-Rezeptorenblockern und der unsubstituierten Verbindung KL 223 eine signifikante Korrelation zur ß-Rezeptorenblocker-Wirkung auf die $NADH+H^+$-Oxidation , die oxidative Phosphorylierung und die Hemmung der Kontraktionskraft des linken Vorhofs. Auch mit der spezifischen ß-adrenolytischen Wirkung konnte keine Korrelation festgestellt werden. Das kann zwei Gründe haben:

1. Es besteht kein Zusammenhang zwischen den untersuchten Systemen und den sterischen oder elektronischen Parametern.
2. Die Auswahl vergleichbarer ß-Rezeptorenblocker ist zu klein (n=6).

Ad 1: Für die unspezifische Wirkung der ß-Rezeptorenblocker (Hemmung der NADH+H^+-Oxidation, der oxidativen Phosphorylierung, der Kontraktionskraft) ist gut dokumentiert, daß bei der kardiodepressiven Wirkung überwiegend die lipophilen Eigenschaften der ß-Rezeptorenblocker ausschlaggebend sind, d.h. die sterischen und elektronischen Parameter sollten, wenn überhaupt, von untergeordneter Bedeutung sein. Bei der ß-adrenolytischen Wirkung handelt es sich allerdings um eine spezifische Pharmakon-Rezeptor-Beziehung. Hierbei sollten nicht allein die hydrophoben Wechselwirkungen eine wichtige Rolle spielen, da aus der Tertiärstruktur der Proteine (hier des ß-Rezeptorproteins) komplexe sterische Gegebenheiten für den ß-Rezeptorenblocker resultieren können. Weiterhin werden bei Pharmakon-Rezeptor-Interaktionen elektronische Wechselwirkungen diskutiert. Es ist deshalb prinzipiell ein Einfluß der gewählten Parameter auf die untersuchten Systeme anzunehmen.

Ad.2: Die hydrophoben Wechselwirkungen sind im allgemeinen unspezifischer Natur. Hellenbrecht et al.(1973, 1974) beschreiben, daß für die negativ inotrope und die lokalanästhetische Wirkung einer homologen Reihe von Phenoxipropanol-ß-Rezeptorenblockern die Position der Methylgruppe im Molekül (Stickstoffatom oder Phenylring) unerheblich ist. Auch bei einer heterologen Gruppe von ß-Rezeptorenblockern (in dieser Arbeit die ortho-substituierten ß-Rezeptorenblocker und KL 255, die zweifach substituierte Verbindung) spielt nach allgemeiner Ansicht bei den unspezifischen

Wechselwirkungen die Lipophilie die Hauptrolle.
Bei den durchgeführten Untersuchungen ergab sich bei allen Systemen (Mitochondrien, ETP, Vorhöfe) eine signifikante Beziehung zu log P oder π, wenn alle ß-Rezeptorenblocker (also auch KL 255) betrachtet wurden. Zum Vergleich mit den sterischen und elektronischen Parametern wurden die gleichen Versuchsergebnisse in Beziehung zu π gesetzt, wobei jedoch nur die fünf ortho-substituierten ß-Rezeptorenblocker und die unsubstituierte Verbindung KL 223 gewählt wurden, um den alleinigen Einfluß in ortho-Position zu betrachten (KL 255 wurde in den Untersuchungen stets mitgetestet, da über diese Verbindung genügend Literaturwerte bekannt sind, d.h. die Güte der durchgeführten Versuche geprüft werden konnte). Es stellte sich heraus, daß dann z.B. die Beziehung π-pC_{Mito} nicht mehr signifikant war. Dies mag ein Hinweis dafür sein, daß durch die relativ kleine Anzahl an untersuchten ß-Rezeptorenblockern Wechselwirkungen z.T. nicht gesehen werden können. Im Fall der sterischen und elektronischen Parameter würde die Auswertung der Meßergebnisse einer größeren Anzahl von ortho-substituierten ß-Rezeptorenblockern möglicherweise noch geringere Einflüsse der gewählten Parameter aufzeigen.

3.2. Abhängigkeit der untersuchten Wirkungen von der Lipophilie

Da mit den untersuchten ß-Rezeptorenblockern keine eindeutigen sterischen oder elektronischen Einflüsse geklärt werden konnten, wurden unter Einbeziehung von KL 255 die lipophilen Wechselwirkungen näher betrachtet.

Wie bereits beschrieben, besteht eine hochsignifikante Beziehung zwischen der Lipophilie (log P, π) der untersuchten ß-Rezeptorenblocker und ihrer negativ inotropen Wirkung (siehe Abb.16). Dabei verhält sich der Korrelationskoeffizient, wie zu erwarten, gleich, wenn man die Lipophilie der Verbindung (log P) oder nur der Substituenten (π) betrachtet, da $\pi_X = \log P_X - \log P_H$ (siehe Einleitung).

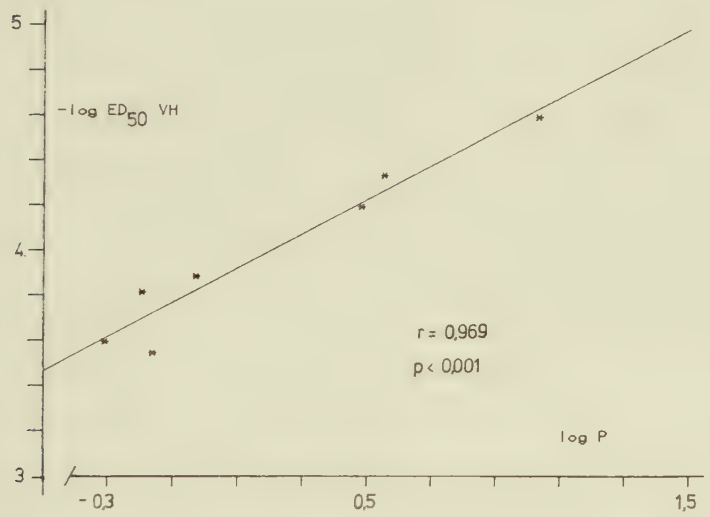


Abb.16: Abhängigkeit der negativ inotropen Wirkung der ß-Rezeptorenblocker von ihrer Lipophilie (n=7)

Weiterhin besteht eine hochsignifikante Beziehung zwischen der Lipophilie und der Hemmung der NADH+H^+-Oxidation bei den ETP:

$$\log 1/_{ED_{50}} = 0{,}84 \log P + 2{,}78 \quad (r = 0{,}92 \; ; \; p < 0{,}005 \; ; \; n = 7)$$

Wie vermutet, korrelieren auch die Hemmung der $NADH+H^+$-Oxidation und der oxidativen Phosphorylierung ($r = 0,96$; $p < 0,001$; $n = 7$) miteinander und damit auch log P und pC_{Mito}. Die Kardiodepression (hier als negativ inotrope Wirkung) erfolgt, wie schon beschrieben, nicht über die ß-Rezeptoren: Zum einen besteht keine Stereospezifität der Reaktion, zum anderen korreliert im allgemeinen der Effekt der ß-Rezeptorenblockade nur gering mit dem kardiodepressiven Effekt der ß-Rezeptorenblocker. Wie auch in dieser Arbeit beschrieben, besteht eine signifikante Beziehung zwischen Lipophilie und Kardiodepressivität. Bisher gibt es einige Erklärungsmöglichkeiten für die unspezifische Wirkung der ß-Rezeptorenblocker. So wird u.a. der Ca^{2+}-Einstrom in Mitochondrien (Noack und Greeff, 1971; Dhalla und Lee, 1976) oder in das sarkoplasmatische Retikulum (Scales und McIntosh, 1968; Dhalla und Lee, 1976; Noack et al., 1978) durch ß-Rezeptorenblocker gehemmt. Noack (1973) findet eine hochsignifikante Korrelation zwischen der Hemmung der Ca^{2+}-Aufnahme in Mitochondrien und der negativ inotropen Wirkung der ß-Rezeptorenblocker. Weiterhin gibt es eine Beziehung zwischen der Hemmung der Ca^{2+}-Aufnahme und der Hemmung der oxidativen Phosphorylierung. Der Autor schlägt als Modell eine Anlagerung der ß-Rezeptoren an die Mitochondrienmembran vor. Dadurch erfolgt eine Hemmung der Ca^{2+}-Aufnahme und durch den gekoppelten Transport von Kationen und Substratanionen eine sekundäre Substratverarmung der Mitochondrien, so daß die oxidative Phosphorylierung ebenfalls

durch die ß-Rezeptorenblocker sekundär behindert wird. Da weiterhin die Hemmung der oxidativen Phosphorylierung der Herzmitochondrien mit der der Lebermitochondrien korreliert, kann man als Screening die kardiodepressive Wirkung eines ß-Rezeptorenblockers durch die Hemmung der oxidativen Phosphorylierung der leicht zu präparierenden Lebermitochondrien anwenden (Noack, 1981).
Kaumann und Blinks (1980a) sind der Ansicht, daß eine Hemmung des Ca^{2+}-Einstroms keine Erklärung für die negativ inotrope Wirkung der ß-Rezeptorenblocker sei. Zum einen sind nach Ansicht der Autoren die ß-Rezeptorenblocker-Konzentrationen , die den Ca^{2+}-Einstrom hemmen, sehr viel höher als die Konzentrationen, die eine eindeutige Kardiodepression bewirken, zum anderen stimmen die Reihenfolgen der beiden Wirkungen nicht überein. Noack (1973) findet jedoch eine hochsignifikante Korrelation zwischen der Hemmung des Ca^{2+}-Einstroms und der Kontraktionskraft. Die erhöhten Hemmkonzentrationen beim Ca^{2+}-Einstrom lassen sich z.B. dadurch erklären, daß isolierte Mitochondrien sich anders verhalten, weil sie aus ihrem Verband innerhalb der Zelle herausgenommen wurden. Weiterhin wäre auch ein Anreicherungsschritt für ß-Rezeptorenblocker vom Außenmedium zu den Zellorganellen (hier Mitochondrien) denkbar, so daß die benötigten ß-Rezeptorenblocker-Konzentrationen die wirklichen Verhältnisse wiederspiegeln (vergl. Lameijer, 1974). Nach Kaumann und Blinks (1980a) ist eine akzeptable Erklärung für die negativ inotrope Wirkung durch die Arbeiten

von Ebner und Reiter (1979) gegeben. Nach deren Ergebnissen soll der negativ inotrope Effekt von Propranolol durch eine Abnahme des Na^+-Einstroms hervorgerufen werden, die bei ähnlichen Konzentrationen erfolgt, wie sie Kaumann und Blinks (1980a) zum Auslösen des negativ inotropen Effektes benötigten. Sekundär ist ein verringerter Ca^{2+}-Einstrom aufgrund des Na^+-Ca^{2+}-Austausches zu beobachten.

3.3. Einfluß der ß-Rezeptorenblocker auf die Atmungskette

In intakten Mitochondrien zeigt sich die Abnahme der oxidativen Phosphorylierung u.a. durch die sekundäre Substratverarmung. Der Symport, d.h. der gekoppelte Ca^{2+}-Substratanion-Einwärtsstrom, wird durch ß-Rezeptorenblocker behindert. Einen direkten Einfluß auf die Atmungskette scheinen diese nicht zu besitzen (Noack, 1973). Eine Entkoppelung der Atmungskette wie durch DNP erfolgte durch die in dieser Arbeit untersuchten ß-Rezeptorenblocker nicht: Der ADP/Sauerstoff-Quotient blieb immer konstant. Müller et al. (1977) beschreiben, daß sich bei der Hemmung der $NADH+H^+$-Oxidation an den ETP die wirksamen Pharmaka an einen Proteinrezeptor der FeS-Proteinregion des Komplexes 1 der Atmungskette anlagern. Diese Bindung spiegelt eine teils spezifische, teils aber auch allgemeine hydrophobe Affinität wieder. Die Autoren glauben daher, daß die ED_{50}-Werte der $NADH+H^+$-Oxidase-Hemmung z.T. für eine quantitative Analyse der hydrophoben Struktur-Wirkungsbeziehungen besser geeignet sind als der n-Octanol-Wasser-

Verteilungskoeffizient P. Während der Verteilungskoeffizient die Wechselwirkungen eines Moleküls an einer Membran als Modell beschreibt, sind die Beziehungen zu einem hydrophoben membrangebundenen Proteinrezeptor möglicherweise realistischer.

Geht man davon aus, daß die ß-Rezeptorenblocker als lipophile Substanzen sich an der Innenmembran der Mitochondrien anlagern können, so würden sie damit am gleichen Rezeptor angreifen wie bei den ETP. Damit hätten die ß-Rezeptorenblocker neben der indirekten Wirkung auf die Atmungskette über die sekundäre Substratverarmung auch noch einen direkten Angriffspunkt an der FeS-Region des Komplexes 1. Hemmung der oxidativen Phosphorylierung der Mitochondrien und Hemmung der $NADH+H^+$-Oxidation würden dann den gleichen Sachverhalt ausdrücken und damit eine Erklärung für die gefundene gute Korrelation zwischen beiden Testsystemen (siehe S.60) geben. Unterschiede zwischen beiden Systemen in ihrer Korrelation mit log P können dann außer durch die schwankende Mitochondrienpräparation auch durch Transportprobleme an Mitochondrienmembranen erklärt werden, die bei den ETP nicht mehr auftreten.

3.4. Spezifische adrenolytische Wirkung der ß-Rezeptorenblocker

Überraschenderweise ergab sich bei den durchgeführten Untersuchungen eine Korrelation zwischen der spezifischen ß-adrenolytischen Wirkung der ß-Rezeptorenblocker und

ihrer Lipophilie:

$$-\log K_{P(B)} = 0{,}55 \log P + 8{,}52 \quad (r = 0{,}71;\ p < 0{,}05;\ n = 7)$$

Es müssen also auch hydrophobe Wechselwirkungen eine bedeutende Rolle in der Pharmakon-Rezeptor-Beziehung spielen: In dem untersuchten begrenzten Lipophiliebereich steigt die Bindung zum Rezeptor mit der Lipophilie der ß-Rezeptorenblocker. Nimmt man die ETP als Modell für eine lipophile Pharmakon-Rezeptor-Wechselwirkung an, so wird die Beziehung noch deutlicher:

$$-\log K_{P(B)} = 0{,}68 \log 1/ED_{50(ETP)} + 6{,}62 \quad (r = 0{,}81;\ p < 0{,}05;\ n = 7)$$

Weil die Lipophilie sowohl mit der unspezifischen als auch mit der spezifischen Wirkung der untersuchten ß-Rezeptorenblocker korreliert, besteht auch eine Beziehung zwischen diesen beiden gemessenen Parametern. Die beiden Wirkungen werden sicher nicht über den gleichen Rezeptor vermittelt, da am gleichen Präparat (isolierter rechter Vorhof) die spezifische Wirkung bei ca. tausendfach geringeren ß-Blocker-Konzentrationen erfolgte als die unspezifische (siehe auch Kaumann und Blinks 1980a; Pendleton et al., 1970).
Andere Autoren (Zakhari et al., 1974) finden eine Beziehung zwischen der myokardialen Selektivität der Derivate des Trimepranols und deren Lipophilie. Auch hier sind demnach

spezifische Wirkungen von der Lipophilie abhängig. Als myokardiale Selektivität definieren die Autoren die Differenz zwischen dem pA_2-Wert der Hemmung der chronotropen Antwort auf IPN am Katzenherzen und dem pA_2-Wert der peripher vasodilatorischen Wirkung durch IPN.

3.5. Intrinsische Aktivität der untersuchten ß-Rezeptorenblocker

In der Literatur besteht eine klare Meinung darüber, daß man aus der Struktur der ß-Rezeptorenblocker nicht auf Selektivität und intrinsische Aktivität schließen kann (siehe z.B. auch Barret und Carter, 1970).
Überraschenderweise zeigten aber alle hier untersuchten ortho-substituierten ß-Rezeptorenblocker eine intrinsische Aktivität. Diese partiell agonistische Wirkung liegt nicht allein an dem ortho-Substituenten, da auch die unsubstituierte Verbindung KL 223 eine ISA zeigte. Mylecharane und Raper (1971) zeigten, daß KÖ 1366, ein ortho-Cyano-Phenoxi-ß-Rezeptorenblocker am Kaninchenvorhof ein partieller Agonist mit hoher Affinität ist. Demnach scheinen ortho-substituierte Verbindungen intrinsische Aktivität zu besitzen. Dabei muß man berücksichtigen, daß bezüglich der ISA erhebliche Speziesunterschiede bestehen (siehe auch Kaumann et al.,1978). Für KÖ 1366 wurde eine ISA am Meerschweinchenvorhof bisher noch nicht aufgezeigt.
Nach allgemeiner Ansicht ist für die ISA allein der aromatische Ring verantwortlich (Palm,1977; Kaiser, 1979)

Im folgenden werden deshalb auch Ethanolaminderivate (z.B. DCI) mit Oxipropanolaminderivaten (alle in dieser Arbeit untersuchten ß-Rezeptorenblocker) verglichen. Neben der Stellung der Substituenten am Aromaten scheinen deren elektronische und sterische Eigenschaften eine erhebliche Rolle für die intrinsische Aktivität zu spielen. Deutlich zeigt dies der Vergleich von IPN mit DCI, wo nur die Hydroxylgruppen durch Chlor - Substituenten ersetzt wurden, DCI aber nur noch rund 40% der Aktivität des IPN besitzt. Der ortho-Substituent ist keine notwendige Voraussetzung für die ISA: Weder DCI noch KL 223 sind in ortho-Position substituiert und besitzen dennoch eine ISA. Andererseits gilt: Fügt man zur ortho-substituierten Verbindung K 105 eine Methylgruppe in 5'-Stellung am Phenylring (KL 255), so läßt sich keine ISA mehr nachweisen. Auch die Metaboliten des KL 255 (Hydroximethyl- und Carboxiderivate) sind reine Antagonisten, unabhängig von den chemischen Eigenschaften der Substituenten (Kaumann und Lemoine, 1978).

Auch der Ersatz nur einer Hydroxylgruppe des IPN durch Chlor ergibt einen ß-Rezeptorenblocker mit ISA (Kaumann et al., 1978).

Beim Ethanolderivat Salbutamol ist der Phenylring in 3'-Stellung mit einer Hydroximethyl-, in 4'-Stellung mit einer Hydroxylgruppe substituiert. Das Oxipropanolderivat H 87/07 besitzt nur in para-Stellung einen 2-Methoxiethyl-Substituenten. Beide ß-Rezeptorenblocker zeigen intrinsische Aktivität am isolierten Meerschweinchenvorhof.

Es besteht somit kein eindeutiger Zusammenhang zwischen der intrinsischen Aktivität eines ß-Rezeptorenblockers und der Konstitution seines aromatischen Ringes.
Die in dieser Arbeit gefundenen Werte für die Substanz K 105 stehen in Einklang mit kürzlich von Lemoine und Kaumann (1982) veröffentlichten Ergebnissen. Die Autoren beschreiben ebenfalls K 105 als partiellen Agonisten mit deutlich höherer Affinität zum Rezeptor als KL 255 (ISA = 0,2; K_p = 9,24; rechte Meerschweinchenvorhöfe). Sie zeigten eine Methode, die Pharmakon-Rezeptor-Wechselwirkung für partielle Agonisten zu bestimmen, die den klassischen Schildplot als einen Spezialfall einschließt. K 105 hemmt demnach, wie auch der volle Antagonist KL 255, kompetitiv.
Kaumann (1980) fand, daß man Agonisten und partielle Agonisten in drei Klassen einteilen kann: So bewirkt IPN seinen halbmaximalen Effekt bei geringer Rezeptorenbesetzung (d.h. es besitzt viele Ersatzrezeptoren, in der zitierten Arbeit als 'spare receptors' bezeichnet), bei DCI besteht eine Proportionalität zwischen Rezeptorenbesetzung und Effekt, während Hydroxipindolol teilweise unproduktiv bindet und nur bei hoher Rezeptorenbesetzung einen positiv inotropen Effekt zeigt. Die in dieser Arbeit untersuchten ß-Rezeptorenblocker sind am ehesten, wie für K 105 gezeigt (Lemoine und Kaumann, 1982), der DCI-Gruppe mit direkter Proportionalität zwischen Rezeptorenbesetzung und Wirkung zuzuordnen.

3.6. Affinität der ß-Rezeptorenblocker

Die Affinität der ß-Rezeptorenblocker zum Rezeptor, ausgedrückt durch den negativen dekadischen Logarithmus der Gleichgewichtsdissoziationskonstanten, ist bei den untersuchten ß-Rezeptorenblockern hoch. Wie oben beschrieben, besitzt K 105 eine höhere Affinität zum Rezeptor als das im Handel befindliche KL 255. Die unsubstituierte Verbindung KL 223 besitzt die geringste Affinität der untersuchten Reihe, was die Rolle der ortho-Substituenten in der Pharmakon-Rezeptor-Beziehung aufzeigt. Zaagsma und Nauta (1974) finden für das dem KL 223 entsprechende N-Isopropyl-Derivat bei einem n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten (pH 7,4) von 0,518 einen pA_2-Wert (rechte Meerschweinchenvorhöfe) von 9,01 $\pm$ 0,16 (zum Vergleich KL 223: P = 0,70 bei pH 7,4; pA_2 = 8,09), was eine höhere Affinität der weniger lipophilen Verbindung bedeuten würde. Zu bedenken ist dabei aber, daß die Autoren auch für Propranolol einen höheren pA_2-Wert von 9,48 bestimmten (zum Vergleich Kaumann und McInerny, 1980: pA_2 für Propranolol gleich 8,6).

Crowther et al. (1969) zeigten für 1-Isopropylamino-3-phenoxi-2-propanol-Derivate, daß Substituenten in Position 2´und 3´am aromatischen Ring hohe Aktivität zeigten (Reduktion der durch IPN induzierten Tachykardie bei Katzen). Besonders hoch war die Wirkung, wenn der Phenylring Halogene oder eine Nitro-Gruppe in 2´oder 3´-Stellung enthielt. Die durchgeführten Untersuchungen ergaben auch eine hohe

Affinität der Acetyl-substituierten Verbindung. So lassen sich demnach Parallelen in anderen Systemen bei gleichen Substituenten sehen.

3.7. Spezifität

Definiert man die Spezifität eines ß-Adrenolytikums S als den Quotienten aus der ED_{50} der Hemmung der Kontraktionskraft und der Gleichgewichtsdissoziationskonstanten K_B bzw. K_P, so gelten für die untersuchten ß-Rezeptorenblocker die in Tab.9 aufgeführten Werte.

Tab.9: Bestimmung der Spezifität

Substanz	Substituent	ED_{50} neg. Inotropie $\times 10^{-5}$ Mol/l	K_P (K_B) nMol/l	S $\times 10^4$
KL 255	$-CH_3$, -Cl	2,53	(1,29)	1,96
K 105	-Cl	4,52	0,73	6,23
K 164	$-CH_3$	6,35	1,38	4,60
KL 357	-F	12,9	4,78	2,70
KL 223	-H	28,0	8,18	3,42
KL 254	$-NO_2$	15,0	1,64	9,15
Kl 200	$-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_3$	25,2	4,71	5,35

Da laut Kaumann und McInerny (1980) keine gravierenden Unterschiede zwischen negativ inotropem und negativ chronotropem Effekt bestehen, wurde bei der Bestimmung der Spezifität der Quotient aus der negativ inotropen, kardiodepressiven Wirkung und der spezifischen adrenolytischen Wirkung (K_B, K_P) gebildet.

KL 255 wird als ß-Rezeptorenblocker mit hoher Spezifität angesehen (Wagner et al., 1972). Erstaunlicherweise ist die Spezifität aller getesteten ortho-substituierten ß-Rezeptorenblocker größer als die des KL 255. Die geringste Kardiotoxizität (d.h. Kardiodepressivität bei spezifischer adrenolytischer Wirkung) besitzt die NO_2-substituierte Verbindung KL 254, gefolgt von K 105.

Für die Klinik ist die negativ inotrope Wirkung der ß-Rezeptorenblocker wegen der potentiellen Auslösung einer Herzinsuffizienz unerwünscht.

Die hier getesteten Substanzen sind alle spezifischer als KL 255 (siehe Tab.9). Fraglich ist jedoch, ob diese ß-Rezeptorenblocker wegen ihrer geringeren Lipophilie in vivo in genügend hoher Konzentration resorbiert werden können.

Weiterhin ist trotz umfangreicher klinischer Untersuchungen immer noch strittig, ob ß-Rezeptorenblocker mit intrinsischer Aktivität therapeutisch bevorzugt werden sollten (Noack, 1982). Die Befürworter einer solchen Therapie argumentieren, daß ß-Rezeptorenblocker mit ISA zwar auf der einen Seite Tachykardie, Herzklopfen und Blutdruckanstieg hervorrufen, andererseits aber auch einen

zu krassen Frequenzabfall verhindern. Es sei aber auch betont, daß geeignete Doppelblindstudien zur endgültigen Abklärung bisher noch fehlen.

Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurden ortho-substituierte Phenoxipropanolamin-ß-Rezeptorenblocker einschließlich der unsubstituierten Ausgangsverbindung hinsichtlich ihrer unspezifischen und spezifischen Wirkungen untersucht. Um die Eigenschaften mit denen handelsüblicher Präparate vergleichen zu können, wurde der am Phenylring disubstituierte ß-Rezeptorenblocker KL 255 (Bupranolol) in die Untersuchungen einbezogen.
Als unspezifische ß-Rezeptorenblocker-Wirkungen wurden die Hemmung der oxidativen Phosphorylierung der Mitochondrien, die Hemmung der $NADH+H^+$-Oxidation der elektronentransportierenden Partikel und die Hemmung der Kontraktionskraft der isolierten linken Meerschweinchenvorhöfe gemessen.
Zur Charakterisierung der spezifischen ß-Rezeptorenblocker-Wirkung wurden die Gleichgewichtsdissoziationskonstanten (K_P bzw. K_B) bestimmt.
Die ortho-substituierten Verbindungen und die unsubstituierte Verbindung sind partielle Agonisten, da sie im Gegensatz zu KL 255 intrinsische Aktivität besitzen.
Die untersuchten Substanzen sind ß-Rezeptorenblocker mit hoher Affinität. Die K_P-Werte der Methyl- und der Nitro-substituierten Verbindung sind mit dem K_B-Wert des disubstituierten KL 255 (2-Chlor-5-Methyl-) zu vergleichen. Die Chlor-substituierte Verbindung besitzt eine noch höhere Affinität. Die geringste Affinität besitzt die unsubstituierte Verbindung.

Bei den Struktur-Wirkungsbeziehungen waren signifikante Korrelationen allein bei den lipophilen Parametern (log P,π) zu beobachten.

Dabei ist erstaunlich, daß nicht nur die unspezifischen Wirkungen (Hemmung der oxidativen Phosphorylierung, der $NADH+H^+$-Oxidation, der Kontraktionskraft) von der Lipophilie abhängig sind, sondern auch die spezifische ß-adrenolytische Wirkung.

Hemmung der oxidativen Phosphorylierung und der $NADH+H^+$-Oxidation durch ß-Rezeptorenblocker korrelieren hochsignifikant miteinander. Damit wird die folgende Hypothese wahrscheinlich:

Die ß-Rezeptorenblocker greifen bei beiden Testsystemen am gleichen hydrophoben Rezeptor der Mitochondrieninnenmembran an.

Damit hemmen die ß-Rezeptorenblocker die oxidative Phosphorylierung direkt und indirekt: Indirekt über eine sekundäre Substratverarmung durch Hemmung des Ca^{2+}-Einstroms, direkt durch Besetzen eines hydrophoben Rezeptors der Proteine der Atmungskette der Mitochondrieninnenmembran.

Durch Anwenden dieser Hypothese ließ sich eine bessere Korrelation der spezifischen ß-adrenolytischen Wirkung (ausgedrückt durch die Gleichgewichtsdissoziationskonstante) mit der Hemmung der $NADH+H^+$-Oxidation der elektronentransportierenden Partikel durch ß-Rezeptorenblocker finden als mit dem n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten,

der bisher als Modell für hydrophobe Wechselwirkungen diente.

Alle untersuchten ß-Rezeptorenblocker besitzen eine geringere Kardiotoxizität (größere Spezifität, ausgedrückt durch den Quotienten aus der ED_{50} der Hemmung der Kontraktionskraft und der Gleichgewichtsdissoziationskonstanten) als KL 255.

Befürchtet man eine durch die Anwendung der ß-Rezeptorenblocker verstärkte Herzinsuffizienz, so sollten die Präparate mit geringerer Kardiotoxizität angewendet werden.

Literaturverzeichnis

AHLQUIST, R.P.; Amer. J. Physiol. 153, 586 (1948)

ARUNLAKSHANA, O., SCHILD, H.O.; Brit. J. Pharmacol. 14, 48 (1959)

BACQ, Z.M.(Ed.), 'Fundamentals of Biochemical Pharmacology', Pergamon Press Oxford New York Toronto Sydney Braunschweig, S. 370 (1971)

BARRET, A.M.; CARTER, J.; Brit. J. Pharmacol. 40, 373 (1970)

BLOOM, B.M., GOLDMAN, I.M.; Adv. Drug Res. 3, 121 (1966)

BROWN, A.C., FRAZER, T.; Trans. Roy. Soc. (Edinburg) 25, 151 (1869)

BÜCHI, J., PERLIA, X., STUDACH, S.P.; Arzneim. Forsch. (Drug Res.) 17, 1012 (1967)

CARLSSON, E., DAHLOT, C.G., HEDBERG, A., PERSSON, H., TANG-STRAND, B.; Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 300, 101 (1977)

CHARTON, M.; J. Am. Chem. Soc. 91, 615, 619, 624, 6649 (1969)

COLLANDER, R.; Acta Chem. Scand. 5, 774 (1951)

CRAIG, P.N.; J. Med. Chem. 14, 680 (1971)

CROWTHER, A.F., GILMAN, D.J., McLOUGHLIN, B.J., SMITH, L.H., TUNER, R.W., WOOD, T.M.; J. Med. Chem. 12, 638 (1969)

DAL POZZO, A., DANSI, A., BIASSONI, M.; Arzneim. Forsch. (Drug Res.) 29 (I), 877 (1979)

DHALLA, N.S., McNAMARA, D.B., SULAKHE, P.V.; Cardiology 55, 178 (1970)

DHALLA, N.S., LEE, S.L.; Brit. J. Pharmac. 57, 215 (1976)

DUNLOP, D., SHANKS, R.G.; Brit. J. Pharmacol. 32, 201 (1968)

EBNER, R., REITER, M.; Naunyn Schmiedeberg´s Arch. Pharmacol. 307, 105 (1979)

FUJITA, T., IWASA, J., HANSCH, C.; J. Am. Chem. Soc. 86, 5175 (1964)

FURCHGOTT, R.F. in H. BLASCHKO, E. MUSCHOLL (Hrsg) `Catecholamines´, Springer Verlag Berlin Heidelberg New York, S. 283 (1972)

GREEFF, K., BENFEY, B.G., BOKELMANN, A.; Naunyn-Schmiedeberg´s Arch. exp. Path. und Pharm. 236, 421 (1959)

HAFNER, D., HEINEN, E., NOACK, E.A.; Arzneim. Forsch. (Drug Res.) 27, 1871 (1977)

HAMMETT, L. in `Physikalische organische Chemie´, Verlag Chemie Weinheim/ Bergstraße, 2.Aufl., 353 (1973)

HANSCH, C., CLAYTON, J.M.; J. Pharm. Sci. 62, 1 (1973)

HANSCH, C., DUNN, W.J., J. Pharm. Sci. 61, 1 (1972)

HANSCH, C., FUJITA, T., J. Am. Chem. Soc. 86, 1616 (1964)

HANSCH, C. GLAVE, W.R.; Mol. Pharmacol. 7, 337 (1971)

HANSCH, C., LEO, A., NIKAITANI, D., J. Org. Chem. 37, 3090 (1972)

HANSCH, C., LEO, A., UNGER, S.H., KIM, K.H., NIKAITANI, D., LIEN, E.J.; J. Med. Chem. 16, 1207 (1973)

HEDBERG, A., MINNEMANN, K.P., MOLINOFF, P.B.; J. Pharmacol. Exp. Ther. 212, 503 (1980)

HELLENBRECHT, D., LEMMER, B., WIETHOLD, G., GROBECKER, H.; Naunyn-Schmiedeberg´s Arch. Pharmacol. 277, 211 (1973)

HELLENBRECHT, D., MÜLLER, K.F., GROBECKER, H.; Eur. J. Pharmacol. 29, 223 (1974)

HIGUCHI, T., DAVIS, S.S.; J. Pharm. Sci. 59, 1376 (1970)

HOFMANN, E. in 'Enzyme und energieliefernde Stoffwechselreaktionen', Teil 2, Akademie-Verlag Berlin, 2.Aufl., S. 119 (1970)

HORII, D., KAWADA, T., TAKEDA, K., IMAI, S.; Arzneim. Forsch. (Drug Res.) 24, 1275 (1974)

HOWE, R.; J. Med. Chem. 13, 398 (1970)

IVERSEN, L.L., CALLINGHAM, B.A. in Z.M. BACQ (ed) 'Fundamentals of Biochemical Pharmacology', Pergamon Press Oxford, S. 253 (1971)

KAISER, G.; Pharmazie heute 2, 199 (1979)

KAUMANN, A.J.; Prog. in Pharmacol. 4, 1 (1980)

KAUMANN, A.J., BLINKS, J.R.; Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 311, 205 (1980a)

KAUMANN, A.J., BLINKS, J.R.; Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 311, 237 (1980 b)

KAUMANN, A.J., BIRNBAUMER, L., WITTMANN, R. in B.W. O'MALLEY, L. BIRNBAUMER (ed) 'Hormone Receptors', Academic Press New York, vol. 3, 133 (1978)

KAUMANN, A.J., LEMOINE, H. in K.H. RAHN, A. SCHREY (Hrsg) '1. Betadrenol- Symposium', Verlag Urban u. Schwarzenberg München Wien Baltimore, S.4 (1978)

KAUMANN, A.J., McINERNY, T.K., GILMOUR, D.P., BLINKS, J.R.; Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 311, 219 (1980)

KAUMANN, A.J., MORRIS, T.H., BIRNBAUMER, L.; Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 307, 1 (1979)

KUBINYI, H.; Drug Res. 26, 1991 (1976)

KUBINYI, H.; Prog. Drug Res. 23, 97 (1979)

KUTTER, E., HANSCH, C.; Arch. Biochem. Biophys. 135, 126 (1969)

LAMEIJER, W., VAN ZWIETEN, P.A.; Arch. int. Pharmacodyn. 210, 306 (1974)

LANDS, A.M., ARNOLD, A., McAULIFF, J.P., LUDUENA, F.P., BROWN, T.G. jun.; Nature 214, 597 (1967)

LEE, K.S., HONG, S.A.; KANG, D.H.; J. Pharmacol. Exp. Ther. 172, 180 (1970)

LEMOINE, H., KAUMANN, A.J.; Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 320, 130 (1982)

MANNHOLD, R.; Dissertation, Düsseldorf (1977)

MARANO, M., KAUMANN, A.J.; J. Pharmacol. Exp. Ther. 198 518 (1976)

MAXWELL, R.A., LINDSEY, L.A., CHAPLIN, E., STILTON, J.; Fed. Proc. 26, 402 (1967)

McFARLAND, J.W.; J.Med. Chem. 13, 1192 (1970)

McFARLAND, J.W., Prog. Drug Res. 15, 123 (1971)

MEYER, H.; Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 42, 109 (1899)

MEYER, R.F., STRATTON, C.D., HASHINGS, S.G., COREY, R.M. J. Med. Chem. 16, 1113 (1973)

MÜLLER, W., SCHEWE, T., RAPOPORT, S.; Acta biol. med. germ. 36, 941 (1977)

MUSCHOLL, F., RAHN, K.H.; Klin. Wschr. 46, 113 (1968)

MYLECHARANE, E.J., RAPER, C.; Eur. J. Pharmacol. 16, 14 (1971)

NOACK, E.A.; Habilitationsschrift, Düsseldorf (1973)

NOACK, E.A.; TIPS 2, 225 (1981)

NOACK, E.A.; Münch. med. Wschr. 124, 337 (1982)

NOACK, E.A., CREA, A.E.G., FALSONE, G.; Toxicon 18, 165 (1980)

NOACK, E.A., GREEFF, K.; J. Mol. Cell. Cardiol. 2, 145 (1971)

NOACK, E.A., KURZMACK, M., VERJOVSSKI-ALMEIDA, S., INESI, G.; J. Pharmacol. Exp. Ther. 206, 281 (1978)

NORRINGTON, F.E., HYDE, R.M., WILLIAMS, S.G., WOOTTON, R.; J. Med. Chem. 18, 604 (1975)

OVERTON, E.; Viertelj. Schr. Naturforsch. Ges. (Zürich) 44, 88 (1899)

PALM, D. in K. HIERHOLZER, N. RIETBROCK (Hrsg) 'Physiologische und pharmakologische Grundlagen der Therapie', Verlag Dr. med. Straube, Erlangen, S. 119 (1977)

PATRIARCA, P., CARAFOLI, E.; J. cell. comp. Physiol. 72, 29 (1968)

PENDLETON, R.G., PETTA, J.M., HAHN, R.A.; Arch. int. Pharmacodyn. 187, 75 (1970)

POWELL, C.E., SLATER; I.H.; J.Pharmacol. Exp. Ther. 122, 480 (1958)

QUINN, F.R., DRISCOLL, J.S., HANSCH, C.; J. Med. Chem. 18, 332 (1975)

RODENKIRCHEN, R.; Dissertation, Düsseldorf (1978)

SCALES, B., McINTOSH, D.; J. Pharmacol. Exp. Ther. 160, 261 (1968)

SCHILD, H.O.; Brit. J. Pharmacol. 2, 189 (1947)

SMITH, B.N., HANSCH, C., AMES, M.M.; J. Pharm. Sci. 64, 599 (1975)

STEPHENSON, R.P.; Br. J. Pharmacol. 11, 379 (1956)

TAFT, R.W. jr. in M.S. NEWMAN (ed.) `Steric Effects in Organic Chemistry´, Verlag Wiley & Sons New York, S. 586 (1956)

TOPLISS, J., COSTELLO, R.J.; J. Med. Chem. 15, 1066 (1972)

TUTE, M.; Adv. Drug Res. 6, 1 (1971)

VAUQUELIN, G., GEYNET, P., HANOUNE, J., STROSBERG, A.D.; Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 74, 3710 (1977)

VAUQUELIN, G., GEYNET, P., HANOUNE, J., STROSBERG, A.D.; Eur. J. Biochem. 98, 543 (1979)

VERLOOP, A., HOOGENSTRAATEN, W., TIPKER, J. in E.J. ARIENS (ed) `Drug Design´, Academic Press New York 7, 165 (1976)

WAGNER, J., KRÜGER, H., SCHÜMANN, H.J.; Arzneim. Forsch. (Drug Res.) 22, 1061 (1972)

WIETHOLD, G., HELLENBRECHT, D., LEMMER, B., PALM, D.; Biochem. Pharmacol. 22, 1437 (1973)

WILKENFELD, B.E., LEVY, B.; Fed. Proc. 27, 351 (1968)

ZAAGSMA, J., NAUTA, W.T., J. Med. Chem. 17, 507 (1974)

ZAKHARI, S., PRONAY, N., DRIMAL, J., MOLNAR, L.; Bratislavské lekarské Listy 62, 678 (1974)

ZWILLENBERG, L.O., BÖSINGER, G.; Arzneim. Forsch. (Drug Res.) 30, 483 (1980)

Lebenslauf

Am 29.12.1951 wurde ich als Tochter des Betriebsleiters Georg Patzelt und seiner Ehefrau Kethe, geborene Kümmeler, in Bergisch Gladbach-Bensberg geboren.
Von 1958 - 1962 besuchte ich die Volksschule Bergisch Gladbach-Heidkamp, bis zur Mittleren Reife von 1962 - 1967 die Frauenoberschule des Nicolaus-Cusanus-Gymnasiums Bergisch Gladbach, von 1967 - 1970 das Gymnasium für Frauenbildung des Lise-Meitner-Gymnasiums, Leverkusen, an dem ich 1970 die Reifeprüfung bestand.
Von 1970 - 1976 studierte ich Biologie und Chemie an der Universität zu Köln und legte 1976 die Erste Philologische Staatsprüfung ab.
Von 1976 - 1982 studierte ich Humanmedizin an der Universität Düsseldorf. Am 24. Mai 1982 wurde mir die Approbation als Arzt erteilt.
Seit September 1982 arbeite ich als Assistenzärztin in der Chirurgischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses in Solingen.
Ich bin seit 1975 mit dem Diplomchemiker Dr. Hans-Ulrich Hempel verheiratet.